UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1956 – N° 101

SUR DIVERS TESTS HÉMATOLOGIQUES APPLIQUÉS AU DÉPISTAGE DE QUELQUES MALADIES PROFESSIONNELLES

ÉTUDE CRITIQUE ET STATISTIQUE

(Travail du Laboratoire de Contrôle
de la Caisse Régionale de Sécurité Sociale de Bordeaux.)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le Lundi 16 Juillet 1956

PAR

Michel-Pierre DEBOT

DOCTEUR EN PHARMACIE
ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX
LICENCIÉ ÈS SCIENCES

Né à Cartelègue (Gironde), le 10 Juillet 1927.

Examinateurs de la Thèse :

MM. AUBERTIN, professeur..... *Président*
CASTAGNOU, professeur.....
LAVIGNOLLE, agrégé..... *Juges*
RIVIÈRE (J.) agrégé.....

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1956

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547307_0030

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1956 – N° 101

SUR DIVERS TESTS HÉMATOLOGIQUES APPLIQUÉS AU DÉPISTAGE DE QUELQUES MALADIES PROFESSIONNELLES

ÉTUDE CRITIQUE ET STATISTIQUE

(Travail du Laboratoire de Contrôle
de la Caisse Régionale de Sécurité Sociale de Bordeaux.)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le Lundi 16 Juillet 1956

PAR

Michel-Pierre DEBOT

DOCTEUR EN PHARMACIE
ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX
LICENCIÉ ÈS SCIENCES

Né à Cartelègue (Gironde), le 10 Juillet 1927.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Examinateurs de la Thèse :

MM. AUBERTIN, professeur..... *Président*
CASTAGNOU, professeur..... *Juges*
LAVIGNOLLE, agrégé..... *Juges*
RIVIÈRE (J.) agrégé..... *Juges*

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1956

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPERIÉ, CHELLE, G. PORTMANN.

DOYEN : M. SIGALAS. — ASSESSEUR : M. TAYEAU.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, ANDERODIAS, ROCHER, LANDE. DUVERGEY. CARLES, LEURET, CHARRIER, DUBREUIL, CRUCHET, PERRENS, BEAUVIEUX, CREYX.

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	DE GRAILLY BROUSTET
Clinique chirurgicale	PAPIN MASSE
Clinique d'accouchements	M. RIVIERE
Clinique gynécologique	MAGENDIE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	N.
Anatomie	DUFOUR
Anatomie générale et histologie	MAYER
Hygiène et Clinique de la tuberculose	PIECHAUD
Médecine légale et médecine du travail	DERVILLEE
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	REBOUL
Chimie	MESNARD
Matière médicale	J GOLSE
Pharmacie	VITTE
Physiologie	FABRE
Clinique médicale des maladies des enfants	FONTAN
Zoologie et parasitologie	SIGALAS

	MM.
Pathologie générale et expérimentale	SARIC
Clinique ophtalmologique	BESSIERE
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	POUYANNE
Clinique médicale et des maladies infectieuses	AUBERTIN
Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT
Médecine et hygiène tropicales et Clinique des maladies exotiques	BONNIN
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	G. PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Botanique et cryptogamie	GIRARD
Thérapeutique	F -J. TRAISSAC
Hydrologie thérapeutique et climatologie	DUBARRY
Carcinologie	LACHAPELE

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL :

M. BLANQUET (Section Pharmacie)

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. MAHON (Obstétrique), PAUTRIZEL (Parasitologie), Mlle ROUGIER (Physiologie), M. MOUSTARDIER (Bactériologie)
M. CAZAUX (Pharmacie 3e Section)

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.
Anatomie pathologique	LEGER
Anatomie	RIGAUD CABANIE
Biochimie médicale	NEUZIL
Pathologie expérimentale	FAURE

	MM.
Physique médicale	DUHAMEL
Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE ROMAIN
Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER QUILICHINI

CHARGÉ DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ :

M. STOLL (Histologie)

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Médecine générale	BERGOUIGNAN LENG-LEVY MORETTI LAVIGNOLLE MARTIN-DUPONT DAVID-CHAUSSE J. RIVIERE
Chirurgie générale	LAUMONIER CHAVANNAZ VILLAR TINGAUD DEPAULIS DARMAILLACQ

	MM.
Obstétrique	CHASTRUSSE FAUGERE
Ophtalmologie	CORCELLE
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS M. PORTMANN
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
Pédiatrie et puériculture	VERGER
Médecine légale et médecine du travail	L'EPEE
Odonto-stomatologie	BENOIT
Urologie	LANGE
Neurologie et psychiatrie	BLANC
Pneumo-phtisiologie	FREOUR

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Médecine opératoire	LAUMONIER
Accouchements	CHASTRUSSE FAUGERE
Puériculture	VERGER PERY
Législation pharmaceutique	COUSTOU
Cryptogamie	LAUBIE
Obstétricie sociale	MAHON
Organographie et physiologie végétale	TEMPERE
Chimie biologique analytique	MARQUEVIELLE
Chimie analytique	BABIN
Pathologie chirurgicale	VILLAR CHAVANNAZ TINGAUD DARMAILLACQ LAPORTE

	MM.
Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Physiologie	BENELLI
Toxicologie et Hygiène	Mlle LARCEBAU
Phytopharmacie	CORTESI
Droit médical international	AUBY
Médecine légale	L'EPEE
Séméiologie médicale	LAVIGNOLLE
Séméiologie chirurgicale	DEPAULIS
Embryologie	STOLL
Pathologie médicale	BERGOUIGNAN LEVY MORETTI DAVID-CHAUSSE RIVIERE MARTIN-DUPONT

Le Secrétaire principal de la Faculté : André GAYRAUD

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation.

A MA FEMME

A MES ENFANTS

A TOUS LES MIENS

A MONSIEUR LE DOCTEUR DULONG DE ROSNAY

ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX

ANCIEN CHEF DE CLINIQUE A LA FACULTÉ

BIOLOGISTE DES HÔPITAUX

Il a dirigé toute notre expérimentation en nous accordant son aide et nous faisant profiter de ses conseils.

Qu'il veuille accepter nos sincères remerciements et croire à notre très amicale et très profonde gratitude.

A MONSIEUR LE DOCTEUR LABADIE

ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX

ANCIEN CHEF DE CLINIQUE A LA FACULTÉ

Ami sympathique et notre initiateur en l'art des statistiques.

A TOUS MES AMIS

A NOS JUGES

MONSIEUR LE DOCTEUR J. RIVIÈRE

AGRÉGÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE

MÉDECIN DES HÔPITAUX

En témoignage d'une vieille et très sincère amitié.

MONSIEUR LE DOCTEUR A. LAVIGNOLLE

AGRÉGÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE

MÉDECIN DES HÔPITAUX

Il nous est agréable de lui témoigner notre vive reconnaissance pour avoir bien voulu juger ce travail.

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. CASTAGNOU

PROFESSEUR DE TOXICOLOGIE ET HYGIÈNE APPLIQUÉE

PHARMACIEN DES HÔPITAUX PSYCHIATRIQUES

OFFICIER D'ACADÉMIE

Avec l'assurance de notre respectueux attachement et de notre vive gratitude au Maître qui nous a largement ouvert le domaine de ses connaissances et nous a toujours entouré de sa bienveillante sollicitude.

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR E. AUBERTIN

PROFESSEUR DE CLINIQUE MÉDICALE

ET DES MALADIES INFECTIEUSES

MÉDECIN DES HÔPITAUX

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

CROIX DE GUERRE 1914-1918

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

CHEVALIER DE L'ORDRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE

Qu'il nous permette de l'assurer de notre respectueuse reconnaissance pour le grand honneur qu'il nous fait en présidant notre thèse et pour la bienveillante attention qu'il nous a toujours manifestée.

SUR DIVERS TESTS HÉMATOLOGIQUES APPLIQUÉS AU DÉPISTAGE DE QUELQUES MALADIES PROFESSIONNELLES

ÉTUDE CRITIQUE ET STATISTIQUE

INTRODUCTION

Le but du dépistage systématique des maladies professionnelles est de pouvoir isoler l'ouvrier du milieu toxique où il travaille avant qu'il ne présente des signes caractéristiques de maladies. Il faudrait donc disposer de tests spécifiques permettant d'affirmer une imprégnation légère du toxique. Ces tests, en plus de leur spécificité, doivent être à la fois sensibles et suffisamment simples pour être réalisés en grande série dans de bonnes conditions techniques.

Certains auteurs avaient pensé les trouver en déterminant la concentration du toxique dans le sang. En fait, cette idée s'est heurtée à de nombreuses difficultés. Tout d'abord, du point de vue technique, la détermination précise du toxique est une opération longue et délicate. Un dosage minutieux est difficilement réalisable en grande série. De plus, on a constaté des divergences entre le taux du toxique dans le sang et l'examen clinique et biologique général du sujet. Ce fait est-il dû à une sensibilité variable avec les individus ou, au contraire, au fait que la fraction du toxique la plus dangereuse est celle qui est fixée, donc celle qui échappe au dosage ?

Donc, en l'absence de tests spécifiques, on pratique divers examens hématologiques. En ce qui concerne le plomb, question qui nous intéresse particulièrement ici, les plus utilisés sont :

— La numération globulaire et la formule sanguine;

— Le dosage de l'hémoglobine;

— La recherche et le comptage des hématies à granulations basophiles;

— Le dosage des coproporphyrines urinaires;

— Et, éventuellement, le dosage de la protoporphyrine globulaire.

A la suite de la découverte, dans un cas d'intoxication aiguë accidentelle par le plomb, d'une augmentation de l'hémoglobine alcalino-résistante, nous avons recherché la valeur de cet élément chez les sujets présentant des signes d'imprégnation saturnine : c'est le but de ce travail.

Dans le premier chapitre, nous ferons un rappel des techniques utilisées pour les différents examens pratiqués. Dans le deuxième chapitre, nous verrons les principales variétés d'hémoglobine et leurs moyens d'étude. Enfin, dans le troisième et dernier chapitre, nous ferons une étude critique, au moyen des données statistiques, des examens hématologiques pratiqués dans le dépistage systématique de quelques maladies professionnelles (en particulier benzène et plomb).

CHAPITRE PREMIER

LES TECHNIQUES UTILISÉES

I. — LA NUMÉRATION GLOBULAIRE

Elle se fait de la manière classique en comptant à la cellule de Malassez les hématies d'un sang dilué au 1/200 avec du liquide de Marcano.

Nous indiquons que toutes les numérations globulaires dont les résultats figurent dans ce travail ont été pratiquées sur du sang recueilli par ponction veineuse, pour éviter que des phénomènes vaso-moteurs ne viennent fausser les résultats au moment du prélèvement.

Cette technique est délicate, car de nombreuses causes d'erreur peuvent s'y glisser :

— Erreur de dilution, due à la pipette ou à l'opérateur;

— Erreur de répartition, due à l'étalement plus ou moins homogène des globules rouges à la surface de la cellule;

— Facteurs personnels dans la numération proprement dite d'un faible volume de dilution et multiplication de toutes ces erreurs par un fort coefficient.

Il semblerait donc que les résultats obtenus par cette méthode soient techniquement peu satisfaisants. En fait, si l'on veut bien admettre qu'une erreur de 100.000 globules rouges au millimètre cube est négligeable pour l'interprétation clinique des résultats, on s'aperçoit que les résultats

fournis par cette méthode sont très cohérents et que, sur une population importante, les résultats sont statistiquement interprétables comme nous le verrons plus loin.

II. — LES MÉTHODES DE DOSAGE DE L'HÉMOGLOBINE DU SANG

Le dosage de l'hémoglobine sanguine est une détermination importante. En effet, elle permet, d'une part, de se rendre compte d'un des facteurs respiratoires essentiels et, d'autre part, permet de calculer la valeur globulaire, c'est-à-dire la charge moyenne en hémoglobine d'une hématie.

La détermination précise et exacte de cette valeur globulaire est importante, car elle est à la base de la classification des anémies. Donc, une mauvaise détermination de l'hémoglobine en donnant une valeur fausse à la valeur globulaire place le malade dans un cadre qui n'est pas le sien, avec comme conséquence une sanction thérapeutique inadaptée. Cette notion soulignée en 1948 par Mallarmé et Tilquin [1] est d'autant plus importante que, pour la majorité des gens, le dosage de l'hémoglobine est une méthode simple et rapide.

En fait, nous allons voir qu'il existe de nombreuses méthodes de dosage plus ou moins complexes, s'appuyant sur les différentes propriétés de l'hémoglobine, et nous verrons leurs valeurs pratiques respectives.

Il y a quatre types de méthodes de dosage de l'hémoglobine :

1° Méthodes colorimétriques;
2° Méthodes gazométriques;
3° Méthodes chimiques de dosage du fer;
4° Méthodes spectrophotométriques.

A. — Les méthodes colorimétriques

Elles consistent à comparer la couleur rouge de l'Hb sous une forme quelconque avec un étalon.

1° *Méthode de Tallquist.* — C'est la plus simple. Elle consiste à comparer la coloration rouge d'une tache de sang obtenue en déposant I goutte de celui-ci sur un papier buvard avec une échelle de papier coloré et étalonné de 10 p. 100 en 10 p. 100.

Comme on le voit, la méthode est des plus simples; malheureusement, elle est aussi imprécise que simple. En effet, les gammes colorées commerciales sont souvent mal étalonnées. De plus, suivant l'étalement de la goutte de sang et sa dessiccation, la valeur trouvée est différente. Cette méthode donne fréquemment des écarts de 10, 20 p. 100 et plus, le plus souvent en excès (Borin [2]). On a ainsi rarement d'anémies hypochromes (Mallarmé).

2° *Dosage sous forme d'oxyhémoglobine.* — Il se fait par simple dilution du sang dans de l'eau distillée, et comparaison de la solution rouge ainsi obtenue avec un étalon théoriquement stable. Le type en est la technique de Gowers [3].

3° *Dosage sous forme de carboxyhémoglobine.* — Il consiste à diluer le sang dans une solution ammoniacale et à y faire barboter du gaz d'éclairage pour transformer l'oxyhémoglobine en carboxyhémoglobine. On compare la teinte obtenue avec des étalons. Ce sont les méthodes de Palmer [4] et Haldane [5].

4° *Dosage sous forme d'hématine acide.* — Il consiste à diluer le sang avec de l'acide chlorhydrique dilué (0,1 N en général) et à comparer la teinte obtenue soit à une solution étalon (Sahli [6], soit à un verre coloré (Newcomer Hellige [7]). Le principal reproche que l'on puisse faire à ces méthodes vient du fait que la coloration de

l'hématine acide n'est pas stable avec le temps, donc la lecture doit être faite un temps déterminé après la dilution. Elles se prêtent mal à des déterminations en série.

5° *Dosage sous forme d'hématine alcaline.* — La méthode de Cohen et Smith [8], modifiée par Wu [9], consiste à diluer le sang dans de l'acide chlorhydrique étendu puis, après un certain contact, à alcaliniser par de la soude en excès. On compare la teinte obtenue avec un étalon.

6° *Dosage sous forme de méthémoglobine.* — La méthode de Havemann [10] consiste à diluer le sang et à transformer l'hémoglobine en méthémoglobine par une solution de ferricyanure de potassium. On compare la teinte obtenue à un étalon.

7° *Dosage sous forme d'hémoglobine réduite.* — La méthode de Burker [11] consiste à diluer le sang avec une substance réductrice pour transformer l'oxyhémoglobine en hémoglobine réduite. On compare la teinte obtenue à un étalon.

8° *Dosage sous forme de cyanhémoglobine.* — La méthode de Stadie [12] consiste à transformer l'hémoglobine diluée en méthémoglobine puis en cyanhémoglobine par une solution de cyanure de potassium. On compare toujours la teinte obtenue à l'étalon.

La précision de ces méthodes, en dehors de l'erreur commise par l'opérateur qui compare deux teintes, dépend essentiellement de :

— La qualité et la stabilité de l'étalon;

— La limpidité de la dilution d'hémoglobine.

Si la seconde condition est facile à réaliser par centrifugation, la première n'est pas toujours remplie. C'est pour cette raison que l'on compare, dans certaines techniques, la dilution à un verre coloré ou à une grille d'absorption connue (Dognon [13]).

Enfin, parmi ces méthodes colorimétriques, il vaut mieux

utiliser, pour des déterminations en série, celles donnant une solution stable avec le temps.

B. — Les méthodes gazométriques

Ces méthodes reposent sur le fait qu'une solution d'hémoglobine saturée en oxygène ou en oxyde de carbone abandonne tout le gaz fixé quand on la transforme en méthémoglobine. Il suffit de mesurer par conséquent le volume d'oxygène ou d'oxyde de carbone dégagé par un volume connu d'hémoglobine préalablement saturé en ce gaz.

Ce sont les méthodes de van Slyke et Niell [14] mesurant l'oxygène dégagé, et celles de van Slyke et Hiller [15] et de Nicloux [16] mesurant l'oxyde de carbone dégagé.

Ces méthodes intéressantes et fidèles sont longues, nécessitent un appareillage complexe et ne se prêtent pas à des dosages en série.

C. — Les méthodes chimiques de dosage du fer

Ces méthodes sont basées sur le principe suivant : après destruction ou défécation des matières organiques, on dose le fer sur le liquide obtenu. Sachant que 1 g d'hémoglobine contient 3,29 mg de fer, on en déduit la concentration en hémoglobine.

1° *Méthode de Fleury et Marque* [17]. — La destruction est faite par le nitrate de magnésie. Les cendres sont dissoutes dans de l'acide chlorhydrique concentré, et le Fe^{+++} est réduit par le mercure en Fe^{++}. Ce Fe^{++} est enfin dosé volumétriquement par molybdomanganimétrie.

2° *Méthode de Fontès et Thivolle* [18]. — Elle dérive de la précédente. La destruction est faite par le mélange nitrate de magnésie - acide nitrique. La réduction du Fe^{+++} en Fe^{++} est obtenue par l'hydrosulfite, et le Fe^{++} est dosé volumétriquement par molybdomanganimétrie.

3° *Méthode de Lapicque* [19]. — Après destruction sulfonitrique, le fer est dosé par la coloration rouge qu'il donne avec le sulfocyanure d'ammonium. On compare la teinte obtenue avec des étalons de fer traités de la même façon.

4° *Méthode de Kennedy.* — Après destruction nitroperchlorique, le fer est dosé par la coloration rouge qu'il donne avec le sulfocyanure de potassium.

5° *Méthode de Wong* [20]. — Il n'y a pas de destruction. Le fer est détaché de la molécule protidique par l'acide sulfurique en présence de persulfate de potasse, puis les protides sont précipités par l'acide tungstique. Le fer est dosé sur le liquide clair ainsi obtenu par la coloration rouge qu'il donne avec le sulfocyanure d'ammonium. Le mode opératoire préconisé par Wong est le suivant :

On ajoute à 0,5 ml de sang 2 ml d'acide sulfurique concentré. Après avoir agité pendant une à deux minutes, on ajoute 2 ml de persulfate de potasse saturé à froid. On dilue avec de l'eau à 25 ml environ et on ajoute 2 ml de tungstate de soude à 10 p. 100. On mélange, complète à 50 ml et filtre. On place dans un tube 20 ml de filtrat, puis 1 ml de persulfate de potasse et, enfin, 4 ml de sulfocyanure de potassium saturé (contenant 20 ml d'acétone pour 100 ml de solution). Après quelques minutes, on compare la coloration rouge obtenue avec une gamme étalon de fer, traitée de la même façon.

6° *Méthode d'Henry* [21]. — La minéralisation est faite par le mélange nitropermanganique, et le fer libéré est dosé par la coloration rouge qu'il donne avec le sulfocyanure de potassium.

Le mode opératoire préconisé par Henry est le suivant :

Placer dans un petit ballon 4 ml d'eau bidistillée, 0,1 ml de sang, 0,6 ml de permanganate de potasse en solution saturée et 3 ml d'acide nitrique pur. Porter le ballon au bain-marie bouillant jusqu'à décoloration complète (s'il reste un excès de permanganate, le détruire par quelques

gouttes de solution d'oxalate d'ammonium). Après refroidissement, ajouter 10 ml d'acétone, compléter à 20 ml avec de l'eau et ajouter 5 ml de sulfocyanure d'ammonium saturé. Une coloration rouge se développe. On la compare cinq minutes après avec une gamme étalon de fer traitée de la même façon, ou on passe au photomètre.

Ces méthodes sont longues et laborieuses, et se prêtent mal à des déterminations en série. Les méthodes de Wong et d'Henry sont les plus simples et les plus rapides. Cette dernière s'effectuant sans transvasement, évite une cause d'erreur. Elles constituent des méthodes de références précieuses, car elles sont précises. Elles appellent cependant quelques remarques. A part les méthodes de Fleury et Marque; Fontes et Thivolle qui sont volumétriques, les autres font appel à la coloration rouge du sulfocyanure ferrique. Cette coloration demande à être utilisée avec certaines précautions, car (Charlot [70]) :

— La coloration ne suit pas la loi de Beer, d'où la nécessité de comparer la teinte obtenue avec des étalons de concentration voisine;

— La coloration est assez fortement influencée par le *p*H de la solution, d'où la nécessité de prendre pour étalon des solutions ayant le même *p*H que les liquides servant aux dosages;

— De nombreux ions affaiblissent la coloration, en particulier les ions SO_4 et Cl.

Donc, opérer toujours dans les mêmes conditions.

Par contre, la coloration est stable pendant vingt-quatre heures, et la limite de sensibilité de la réaction est de 50 γ par litre, ce qui est très largement suffisant.

L'intensité de la réaction est augmentée par addition d'acétone qui diminue la constante diélectrique du milieu.

7° *Méthode de Heilmeyer et Plotner* [22]. — La minéralisation est faite par le mélange sulfo-nitro-perchlorique à chaud. Après réduction en Fe^{++} par l'hydroquinone, celui-

ci est complexé avec l'orthophénantroline en donnant une coloration rose.

Cette méthode présente les caractères suivants :

— La coloration suit la loi de Beer entre des limites assez larges;

— La coloration est stable plusieurs jours;

— La coloration est moins influencée par le *p*H;

— Le complexe est stable, ne dépendant ni d'un excès de réactif ni de la présence d'autres ions, sauf en quantités très importantes;

— Mais la réaction est extrêmement sensible, d'où la nécessité d'opérer avec des réactifs et une verrerie rigoureusement impeccables.

D. — Les méthodes spectrophotométriques

Ces méthodes consistent à mesurer la densité optique d'une dilution de sang à des longueurs d'onde déterminées et variables selon les circonstances.

La plus courante est la méthode d'Heilmeyer [23]. Elle consiste à diluer le sang au 1/100 dans une solution d'ammoniaque à 0,4 p. 100 et à déterminer la densité optique de cette dilution à deux longueurs d'onde convenablement choisies. Tout d'abord à 541 mμ correspondant à un maximum d'absorption (bande bêta de l'oxyhémoglobine), et ensuite à 560 mμ correspondant au minimum entre les bandes alpha situées à 576 et 541 mμ.

Le taux d'hémoglobine en g p. 100 de sang est donné par :

$$\text{D. O. } 541\ \text{m}\mu \times 11{,}8$$
$$\text{et D. O. } 560\ \text{m}\mu \times 19{,}3$$

Les deux mesures se contrôlent mutuellement. Si les mesures sont correctes, le rapport $\frac{\text{D. O. } 541\ \text{m}\mu}{\text{D. O. } 560\ \text{m}\mu}$ se situe entre 1,58 et 1,68 (Hufner). Il est néanmoins recommandé

de contrôler la méthode au départ avec un sang étalonné par une méthode de référence (dosage du fer).

Il est évident que l'on pourrait doser spectrophotométriquement l'hémoglobine sous d'autres formes (hématine acide ou alcaline, hémoglobine réduite, méthémoglobine, nitrosohémoglobine, etc.), en faisant varier les longueurs d'onde de lecture. L'avantage de la méthode d'Heilmeyer est d'être simple, rapide, pratiquement indépendante du temps (la coloration reste stable pendant plusieurs heures), donc elle convient très bien à des déterminations en série.

Pour se faire une idée plus précise de la valeur de ces différentes méthodes, nous avons comparé, à partir de mêmes échantillons de sang :

1° Une méthode colorimétrique, celle de Hellige;

2° Une méthode chimique de dosage du fer, celle d'Heilmeyer et Plotner;

3° Une méthode spectrophotométrique, celle de Heilmeyer.

Les résultats obtenus à partir de neuf sangs d'origine diverse sont mentionnés dans le tableau suivant :

	Dosage colorimétrique		Dosage chimique du fer		Dosage spectrophotométrique	
	en g p. 100 d'Hb	en p. 100	en g p. 100 d'Hb	en p. 100	en g p. 100 d'Hb	en p. 100
Sang n° 1	9,30	57	9,63	60	9,71	60
— 2	12,90	80	13,30	83	13,59	85
— 3	14,60	90	15,30	95	15,50	96
— 4	9,30	57	9,24	57	9,71	60
— 5	15,40	95	16,04	100	16,36	102
— 6	8	50	8,75	54	9	56
— 7	7,30	47	10,21	63	10,42	65
— 8	13,80	85	15,56	97	16,02	100
— 9	16,10	100	14,83	92	15,03	93

Nous voyons que la méthode spectrophotométrique donne des résultats tout à fait superposables à ceux de la méthode chimique. La méthode de Hellige, un peu moins précise, donne cependant des chiffres cliniquement valables. Des résultats analogues ont d'ailleurs été trouvés par Ferville [39]. Mais comme la méthode spectrophotométrique d'Heilmeyer donne des colorations stables pendant plusieurs heures, elle se prête très bien à des déterminations en série. C'est donc la méthode de choix, à la fois simple, rapide, précise pour le dosage de l'hémoglobine sanguine. C'est celle que nous avons utilisée.

III. — LA RECHERCHE ET LE COMPTAGE DES HÉMATHIES A GRANULATIONS BASOPHILES

La recherche des hématies à granulations basophiles se fait sur un frottis de sang coloré soit au May-Grunval-Giemsa classique, soit au bleu de Lœfler, soit au bleu de toluidine. Dans ces conditions, on voit, dans certaines hématies, de fines granulations punctiformes ayant une coloration bleue foncée.

Albahary [24] a étudié la valeur des différentes techniques de mise en évidence des granulations basophiles dans les hématies. Il a montré que la coloration au bleu de toluidine permet d'en mettre en évidence deux fois plus que celle au May-Grunval-Giemsa. La coloration au bleu de Lœfler est intermédiaire entre les deux, au point de vue sensibilité du dépistage de ces granulations.

Le comptage de ces hématies à granulations basophiles se fait soit par rapport à 100 hématies, soit par rapport à 100 leucocytes. Cette dernière façon de compter est la plus répandue.

Quelle est la valeur de la présence d'hématies à granulations basophiles ?

Tout d'abord, elle indique un état pathologique. Sa présence dans un sang normal est exceptionnelle. La pré-

sence de ces granulations basophiles peut s'expliquer de deux façons. Pour certains, elles représentent des restes nucléaires, donc on aurait affaire à des hématies jeunes libérées dans la circulation générale avant de s'être complètement débarrassées de leur noyau. Leur présence dans le sang indique donc un état d'anémie au stade de régénération. De fait, leur présence se rencontre dans certains états d'anémie. Pour d'autres, elles représentent des granulations toxiques et seraient l'indice de l'imprégnation de l'organisme par une substance nocive.

Pour Albahary, la présence d'hématies à granulations basophiles dans un sang au cours de dépistage systématique est l'indice le plus simple et le plus fidèle de saturnisme. L'anémie n'apparaît qu'en second lieu et n'est pas constante; par contre, la présence d'anémie sans hématies ponctuées est exceptionnelle. Donc, pour cet auteur, la recherche des hématies ponctuées est un test fidèle et à peu près spécifique. De plus, il pense que le taux des hématies ponctuées est proportionnel à l'imprégnation saturnine, mais que le seuil du danger est variable avec les individus.

IV. — LE DOSAGE DES COPROPORPHYRINES URINAIRES

Les échantillons d'urine en vue de la recherche et du dosage des coproporphyrines doivent être gardés à l'abri de la lumière et de la pollution microbienne.

Pour la recherche des coproporphyrines, la méthode suivante, qui est simple, peut être employée. Elle a l'avantage de n'être positive que pour des taux nettement supérieurs à la normale. 15 ml d'urine sont additionnés de quelques gouttes d'acide acétique glacial et de 5 ml d'acétate d'éthyle ou d'alcool amylique. Après forte agitation, on décante la couche supérieure et on y ajoute I goutte d'acide chlorhydrique et on examine au spectroscope. On voit alors les bandes caractéristiques des porphyrines.

Une autre méthode consiste à traiter 15 ml d'urine par quelques gouttes d'acide acétique et 5 ml d'éther. Après forte agitation, l'éther est examiné en lumière de Wood. La présence en excès de coproporphyrine se traduit par l'apparition d'une fluorescence rouge.

Pour le dosage, on peut utiliser la méthode de Fischer [25]. Extraire 30 ml d'urine acidifiée par 6 ml d'acide acétique, par 50 ml d'éther en quatre ou cinq fois. Les éthers réunis sont lavés par de l'eau distillée. La porphyrine est extraite de l'éther par plusieurs portions de 2 ml d'acide chlorhydrique à 5 p. 100. Les solutions chlorhydriques sont dosées soit au spectrophotomètre, soit par l'intensité de leur fluorescence rouge en lumière de Wood.

L'augmentation de l'élimination de la coproporphyrine dans les intoxications par le plomb est constante et importante. Des taux de 1 à 2 mg sont fréquents. Cette augmentation est également fréquente chez les ouvriers en contact avec le plomb. La plupart des auteurs considèrent que l'augmentation de la coproporphyrine est un signe précoce qui survient bien avant les signes cliniques. Schein [26] admet que la coproporphyrinurie physiologique est de 60 γ environ par litre. Il trouve couramment des éliminations de 150 γ chez des sujets exposés au plomb, et pense que des éliminations supérieures à 500 γ nécessitent des mesures sanitaires. A la suite d'expériences d'administration de sels de plomb, Costes, M^lle^ Tissier et Pelou [27] constatent que le dosage des coproporphyrines urinaires est un moyen plus fidèle et plus précoce de déceler le début de l'intoxication que le dosage du plomb dans le sang ou la recherche des hématies ponctuées.

Malheureusement, cette recherche n'est pas spécifique. On trouve des hyperporphyrinuries dans :

— Diverses intoxications médicamenteuses (sulfonal, trional, véronal, sédormid, pyramidon, salvarsan, sulfamides...) ;

— L'alcoolisme, où les taux, bien que le plus souvent

modérés (100 à 200 γ), peuvent atteindre 1 et 2 mg dans des cas chroniques (Brugsch Keys) ;

— L'intoxication phosphorée, mais de façon moins constante ;

— Diverses autres intoxications (sélénium, dibenzanthracène, trinitrotoluène) ;

— Certaines maladies cutanées, mentales, hématologiques, hépato-biliaires, états fébriles ;

— Certaines avitaminoses (acide panthoténique) ;

— Enfin, dans les porphyries aiguës et congénitales.

Malgré ces nombreuses circonstances dans lesquelles on peut trouver une hyperporphyrinurie, la valeur du test pour le dépistage des intoxications par le plomb demeure, et il n'est pas douteux qu'une élimination accrue est un argument en faveur d'une telle intoxication.

V. — LE DOSAGE DE LA PROTOPORPHYRINE LIBRE GLOBULAIRE

La technique la plus utilisée est celle de Grinstein et Watson [28]. On part de 5 ml de globules rouges lavés deux fois au sérum physiologique que l'on homogénéise avec 30 ml du mélange acétate d'éthyle - acide acétique (3/1). Le mélange est agité pendant une à deux minutes. On laisse reposer pendant dix minutes et on filtre. Le résidu est lavé trois fois avec 15 ml du même mélange. Tous les filtrats sont réunis et lavés trois fois à l'eau distillée. Les eaux de lavage sont réextraites par 10 ml du mélange acétate d'éthyle - acide acétique que l'on joint au premier extrait.

La totalité des extraits acétate d'éthyle - acide acétique est extraite à plusieurs reprises par 2 ml d'acide chlorhydrique à 10 p. 100 jusqu'à ce que cet acide ne présente plus de fluorescence rouge. Les extraits chlorhydriques sont amenés à *p*H 4,2 par une solution d'acétate de soude à 10 p. 100. On extrait alors trois fois par de l'éther. On lave

l'éther une fois par quelques ml de carbonate de soude à 1 p. 100 et deux fois par de l'eau distillée. Finalement, l'éther est extrait en plusieurs fois par 15 cm^3 d'acide chlorhydrique à 5 p. 100. Compléter à volume connu avec l'acide chlorhydrique et lire au spectrophotomètre à 409 $m\mu$. L'appareil a été préalablement étalonné avec une solution chlorhydrique de porphyrine.

La teneur normale des globules rouges est de 15 à 40 γ de protoporphyrine pour 100 cm^3 de globules. On admet que cette protoporphyrine globulaire est l'indice d'une synthèse imparfaite de l'hémoglobine, car on avait constaté que les hématies qui présentaient une fluorescence rouge avaient aussi des filaments colorables par le bleu de crésyle. En fait, l'évolution des deux n'est pas parallèle. De toute façon, la présence en quantité anormale de protoporphyrine globulaire indique la présence d'éléments jeunes.

Bénard et Gadjos pensent que la synthèse de la protoporphyrine est plus facile que celle de l'hémoglobine quand l'organisme manque de fer. Dans les anémies secondaires, elle serait due non à une hyperactivité mais à une déviation du métabolisme.

Son taux est augmenté dans diverses affections et en particulier dans les anémies fériprives, les anémies secondaires (hémorragies, cancer, hémopathies), la maladie de Biermer traitée au moment de la crise réticulaire; elle est normale avant et après; enfin, dans le saturnisme (Watson [30], Vigliani [29], Kench [31], Dulong [32]).

Il ne semble cependant pas que ce soit un test très sensible pour le dépistage systématique, bien que son taux soit nettement augmenté dans les intoxications aiguës ou chroniques.

CHAPITRE II

LES VARIÉTÉS D'HÉMOGLOBINE

On sait depuis longtemps qu'il existe dans l'espèce humaine plusieurs variétés d'hémoglobine. KORBER, en 1866, et KRUGER, en 1887, ont les premiers montré que si l'hémoglobine de l'homme adulte se dénature rapidement en milieu alcalin, il n'en est pas de même de l'hémoglobine du nouveau-né qui résiste à cette dénaturation alcaline. D'où le nom pour cette variété d'hémoglobine alcalino-résistante.

L'étude de l'hémoglobine faite par de nombreux auteurs, à l'aide de méthodes différentes, a abouti à des conclusions intéressantes. Les différentes propriétés de l'hémoglobine ont été mises à profit pour différencier les diverses variétés. On a étudié notamment :

1° La forme des cristaux;
2° La vitesse d'étalement en couche monomoléculaire;
3° La solubilité;
4° Les propriétés immuno-chimiques;
5° La composition en amino-acide;
6° L'étude des spectres d'absorption;
7° L'électrophorèse;
8° La chromatographie;
9° *L'alcalino-résistance.*

*
**

1° *La forme des cristaux.* — La cristallisation de l'hémoglobine a été étudiée depuis longtemps. Les auteurs avaient trouvé une forme cristalline caractéristique pour chaque espèce. Drabkin, en 1946, a mis au point une méthode standard de cristallisation de l'hémoglobine. Grâce à cette technique, Perrier et Jannelli ont obtenu des cristaux différents pour l'hémoglobine adulte normale et l'hémoglobine fœtale. Cette différence a été retrouvée par Winkler, Kraus et Haurovitz, par van der Schaaf et Huisman [33] qui trouvent que l'hémoglobine adulte cristallise dans le système orthorombique, alors que l'hémoglobine fœtale le fait dans le système triclinique. C'est une méthode longue et délicate et qui montre bien une différence fondamentale entre les deux variétés d'hémoglobine.

2° *Vitesse d'étalement en couche monomoléculaire.* — Van der Schaaf et Huisman ont montré que l'hémoglobine adulte s'étale rapidement alors que la variété fœtale le fait lentement. Elle a été étudiée aussi par Dervichian et Fournet.

3° *La solubilité.* — Il y a peu de différence, au point de vue solubilité, entre l'hémoglobine adulte et fœtale, dans une solution de phosphate à *p*H 6,5 et à 24°, qu'elle soit sous la forme oxydée ou réduite.

Par contre, l'hémoglobine provenant d'individus atteints d'anémie à cellules falciformes présente, au point de vue solubilité, des caractères différents des variétés adultes et fœtales.

Perutz et Mitchison ont montré que si l'hémoglobine adulte normale est deux fois moins soluble sous la forme réduite que sous la forme oxydée, il n'en est pas de même de l'hémoglobine extraite des globules de sujets atteints d'anémie falciforme. En effet, dans cette variété d'hémo-

globine, la forme réduite est cent fois moins soluble que la forme oxydée. Ces auteurs pensent que cette différence de solubilité entre les deux formes oxydée et réduite est à l'origine d'une cristallisation de cette dernière dans le globule rouge, entraînant sa forme en faucille. Cette même hypothèse est soutenue par Ponder, Granick et Harris. De même, Singer, Chernoff et Amoz [34] ont mis en évidence la formation de « gel » et de « tactoïd » dans des solutions concentrées d'hémoglobine réduite provenant de malades atteints d'anémie falciforme, alors que les variétés adultes et fœtales ne donnent jamais ces formations. Cette propriété est due à la différence de solubilité des deux formes oxydée et réduite. Ces auteurs en déduisent que cette hémoglobine est différente des variétés adultes et fœtales.

Ils l'ont nommée hémoglobine S. Cette différence de solubilité est également mise en évidence par un autre fait. Si ces malades atteints d'anémie falciforme ont des hématies en faucille et possèdent une forte proportion d'hémoglobine S, par contre les individus ne présentant qu'un seul gène *(sickle - sell - trait)* ont une proportion en hémoglobine S plus faible, peu ou pas d'anémie, et la forme de leurs globules est normale. On peut néanmoins mettre en évidence l'hémoglobine S qu'ils contiennent. Il suffit de placer I goutte de sang entre lame et lamelle et de luter la préparation à la paraffine pour éviter la dessiccation et l'oxydation. On voit alors les hématies prendre la forme en faucille, ce qui démontre bien la présence d'hémoglobine S, mais en quantité insuffisante pour que cette forme soit prise *in vivo*. Enfin, Pauling a montré, dans ces cas d'anémie falciforme, que le sang veineux possède des hématies en faucille, alors que le sang artériel a des hématies normales. L'ensemble de ces faits semble montrer que l'hypothèse est exacte.

Roche et Derrien [35, 36, 37, 38] ont fait des courbes de solubilité fractionnées des variétés A et F d'hémoglobine à

température constante et à *p*H et concentration saline variables. Ils ont trouvé une courbe discontinue; donc le corps analysé n'est pas une entité, mais contient plusieurs fractions. Ils notent :

— Surtout les fractions f_2 et f_3 dans le sang du fœtus de cinq mois;

— Surtout f_1 dans le sang du nouveau-né;

— Surtout a_1 et a_2 dans le sang de l'adulte (voir courbes ci-après).

Donc, à mesure que le fœtus devient plus âgé, il y a diminution des fractions f_3 puis f_2, et augmentation des fractions f_1 puis a_2.

Ceci se traduit par la présence de 80 p. 100 d'hémoglobine F à la naissance. A trois mois, on n'en trouve plus que 34 p. 100, à sept mois 12 p. 100, puis le taux se stabilise vers 6 p. 100 chez l'adulte.

Roche et Derrien ont montré plusieurs faits importants :

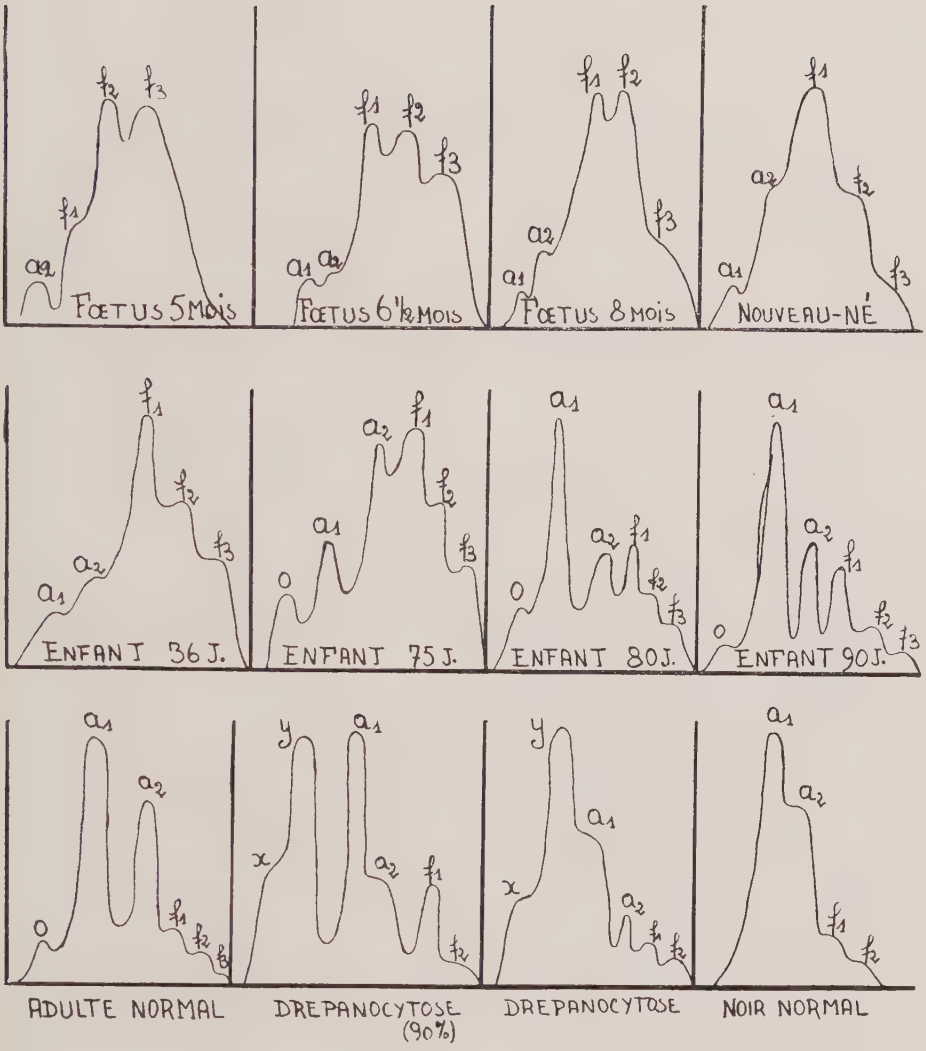
a) Le déclenchement de la production importante d'hémoglobine A coïncide avec la naissance, c'est-à-dire avec le commencement de la vie « à l'air ». Il est sans rapport avec la nature du centre hématopoïétique (foie, rate, moelle), dont la transition est plus progressive.

b) Cette ascension est surtout nette à partir du troisième mois. Cette période de cent-vingts jours correspond à la disparition des hématies existant à la naissance et dont la vie est précisément voisine de cent-vingts jours.

Les auteurs trouvent en effet 20 p. 100 d'hémoglobine A à la naissance, 22 p. 100 à un mois, 30 p. 100 à deux mois, 66 p. 100 à trois mois.

c) Ils ont montré que l'hémoglobine alcalino-résistante de l'adulte est identique à celle du fœtus, contrairement à certains auteurs qui pensaient avoir affaire à deux variétés différentes.

d) Dans les cas d'anémie drépanocytaire, il y a apparition de variétés anormales nettement différentes des hémoglobines A et F. Ils ont trouvé deux variétés nouvelles dénommées X et Y.



Courbes de solubilité fractionnée, de Roche et Derrien.

D'après ces résultats, ils concluent que les hémoglobines pathologiques peuvent provenir de deux mécanismes : soit anomalie de synthèse et formation de formes anormales (S. C, D...), soit retour à l'état fœtal et excès de la variété F normale.

4° *Les propriétés immunochimiques.* — Le pouvoir antigénique des hémoglobines est faible, et la spécificité peu étroite, comme l'ont montré Heidelberger et Landsteiner [40]. Cette voie a été peu poussée en raison de ce caractère; les résultats obtenus n'ayant pas été encourageants.

5° *La composition en amino-acides.* — Les différences entre la constitution chimique des variétés d'hémoglobine ne porte pas sur le hème mais sur la molécule protidique. Elles tiennent soit à la composition en amino-acides, soit à l'arrangement moléculaire de ceux-ci. C'est pour mettre en évidence de telles différences que l'étude des amino-acides a été faite.

Van der Schaaf et Huisman trouvent six groupements valine terminaux dans la molécule d'hémoglobine A, alors qu'il n'y en aurait que deux dans la molécule d'hémoglobine F. De même Roche et Derrien ont fait des constatations analogues.

Derrien et Laurent [41], en étudiant les groupements terminaux d'isoleucine, en ont trouvé 0,32 p. 100 pour la variété A et 1,95 p. 100 pour la variété F.

Ceci montre bien une différence essentielle entre les deux variétés.

6° *L'étude des spectres d'absorption.* — Le spectre d'absorption le mieux étudié est évidemment celui de la variété adulte normale. Il l'a été sous forme d'hémoglobine oxydée, réduite; d'hématine acide et alcaline; de méthémoglobine; de cyanhémoglobine.

Le spectre de l'oxyhémoglobine adulte normale présente plusieurs maximums :

Dans l'ultra-violet à 278 et à 342 mμ, bandes données par

la protéine; dans le visible à 414 mμ, bande de Soret due au moyen tétrapyrolique; à 540 et 576 mμ, bande de Stockes.

Donc, les maximums d'absorption dans le visible sont dus au groupement prosthétique (hème).

Dans l'infra-rouge à 800, 2.000, 2.500, 3.100, 3.600, 4.000, 4.500, 5.600, 6.200, 6.700 et 7.200 mμ, ces bandes sont dues à la protéine.

D'après la nature des groupements qui sont à l'origine des maximums d'absorption, on peut penser que seules les bandes situées dans l'ultra-violet et l'infra-rouge ont des chances d'être différentes dans les spectres des composés oxygénés des autres variétés d'hémoglobine.

Jope trouve une différence dans l'ultra-violet entre l'hémoglobine adulte et fœtale. Le point d'inflection de la courbe correspondant au tryptophane est à 2.898 Å pour la fœtale et 2.910 Å pour l'adulte. De même Beaven, Hoch et Holiday [42] retrouvent cette différence et notent toutes les valeurs intermédiaires entre ces deux chiffres suivant la proportion des deux variétés. Van der Schaaf et Huisman ont trouvé la même différence de spectre en ultra-violet que les autres auteurs et notent, de plus, que l'hémoglobine des anémies falciformes a le même spectre que la variété adulte.

Nous avons fait le spectre des deux variétés A et F sous forme d'oxyhémoglobine et avons noté un décrochage de la courbe à 288 mμ pour la variété fœtale et à 290 mμ pour l'adulte. Le reste de la courbe est rigoureusement superposable. Néanmoins, cette différence n'est pas très importante, et nous ne pensons pas qu'elle puisse servir à un dosage des deux constituants dans un mélange.

Les auteurs italiens Perrati, Borello, Turco et Larisetto [43], en étudiant les spectres dans l'infra-rouge, notent de légères différences vers les 8.000 mμ. Ils trouvent que le rapport $\frac{\text{D. O. } 7.700}{\text{D. O. } 8.030}$ est constamment plus faible pour

la variété A que pour la variété F. Dans l'anémie de Cooley, ils obtiennent une valeur intermédiaire pour ce même rapport. Ils pensent que cette différence vient d'une disposition différente des chaînes polypeptidiques.

7° *L'électrophorèse.* — Cette technique a été largement étudiée pour séparer les diverses variétés d'hémoglobine depuis les travaux de Pauling, Wells, Singer et Itano [44]. En effet, l'électrophorèse sépare les protéines suivant leur *p*H isoélectrique en fonction du *p*H, de la nature et de la force ionique du tampon, ainsi qu'en fonction des voltages et intensités appliqués à la solution à analyser. Les deux techniques d'électrophorèse, de Tiselius en tube et sur papier ont été étudiées.

a) *Etudes faites selon la technique en tube.* — En 1949, Pauling, Itano, Singer et Wells, avec un tampon phosphate de *p*H 6,5 et de force ionique 0,1, séparent, sous forme de carboxyhémoglobine, les variétés adultes (*p*H isoélectrique 6,87 à 6,91) de celle d'anémie falciforme (variété S de *p*H isoélectrique 7,09 à 7,13). Dans ces conditions, ils obtiennent deux pics, un pour chaque variété, mais la forme F n'est pas séparable de la forme A. En opérant avec un tampon plus dilué (force ionique 0,01), ils arrivent à retrouver sur leurs diagrammes la forme F. Cette difficulté vient du fait que le *p*H isoélectrique de cette dernière est 6,97 à 7,04, donc très près de la forme A.

Wells et Itano [45] ont repris la question en 1951, en utilisant un tampon cacodylique et de la carboxyhémoglobine préparée selon Drabkin [60]. Ils séparent bien les formes A et S, mais ne font pas mention de la forme F.

Beaven, Hoch et Holiday ont, en 1951, décrit une méthode de séparation des variétés A et F. L'électrophorèse est faite avec du tampon phosphate à *p*H 8. Dans ces conditions, la variété A migre légèrement plus vite que la variété F.

Rich [46], en 1952, a fait des électrophorèses d'hémoglobine dans des cas d'anémie de Cooley, concurremment

d'ailleurs avec des mesures de dénaturation alcaline et des études de spectre. Il trouve, avec un tampon phosphate à *p*H 8,2, la présence de deux variétés d'hémoglobine. Son diagramme est assez voisin de celui obtenu avec un mélange des formes A et F. Par contre, chez les malades ne possédant qu'un seul gène, il ne trouve que la variété A.

b) *Etudes faites par électrophorèse sur papier.* — Après la démonstration de Pauling, de nombreux chercheurs se sont attachés à obtenir la même séparation par la technique sur papier, plus simple et moins onéreuse.

Spaet [47], en 1953, a décrit une méthode utilisant l'appareil de Durrum. L'auteur utilise un papier Wathman n° 1 avec un courant de 110 volts appliqué pendant vingt-quatre heures. Le tampon utilisé est celui au véronal classique à *p*H 8,6. Dans ces conditions, il sépare facilement les formes A et S.

Larson et Ranney [48], en 1953, font une étude approfondie des conditions d'électrophorèse. Ils notent que la faible force ionique permet d'employer un fort voltage qui sépare mieux les fractions sans introduire un échauffement du papier.

Ils ont essayé divers tampons (phosphate, cacodylate, véronal) à divers *p*H (6,5 à 9,2), et concluent que celui qui donne le plus de satisfaction est le tampon véronal de *p*H 8,6.

Les volumes de solution d'hémoglobine à employer ne doivent pas dépasser 0,02 ml, sinon on observe des étalements latéraux considérables gênant beaucoup la migration et la séparation.

L'effet de la dialyse est de supprimer les traînées de tête qui se produisent quelquefois. A part cela, elle n'est pas nécessaire.

Le fait d'opérer sur de la carboxyhémoglobine n'altère pas la mobilité électrophorétique, mais augmente la stabilité.

Dans ces conditions, ces auteurs arrivent à séparer les variétés A, S et C, mais non la variété F.

En 1954, Motulsky, Milton et Durrum [49] ont décrit une méthode permettant de séparer les formes A, S et C, mais par la variété F.

En 1954, Bergren et Sturgeon [50] sont arrivés à séparer les variétés A, F, S et C. Ils effectuent leur électrophorèse dans un appareil de Kunkel - Tiselius avec un tampon véronal de *p*H 9,8 et un papier Schleicher et Schuell n° 598. Ils distinguent trois zones : la première, la plus rapide, correspond à la variété A ; la deuxième, intermédiaire, à la variété S, et la troisième, la plus lente, à la variété C. La variété F est intermédiaire entre les variétés A et S.

Enfin, en 1955, Cabannes et Portier [51, 52] ont décrit une méthode permettant de mettre en évidence les variétés A et F. Ces auteurs notent les grandes difficultés qu'ils ont rencontrées pour séparer ces deux variétés. Ils montrent que la mise en évidence de ces deux types n'est possible qu'en présence d'au moins 20 p. 100 d'une variété. De toute façon, leur recherche est confirmée par un test d'alcalino-résistance.

En résumé, la technique d'électrophorèse a été très employée pour la séparation des différentes variétés d'hémoglobines humaines. Il faut bien reconnaître que si la méthode est valable pour mettre en évidence des variétés anormales dans les cas d'anémie, elle l'est beaucoup moins pour la séparation des variétés A et F.

Nous même avons fait quelques essais à ce sujet.

Nous avons utilisé l'appareil de Grassman et Hanning (Elphor). Nous avons essayé des tampons véronal et phosphate à divers *p*H, ainsi que divers papiers. Nous avons obtenu, avec un tampon véronal sodique à *p*H 9,2, un accident dans la partie ascendante de la courbe pour un sang de cordon. Cet accident peut être interprété comme la présence de la variété A dans ce sang.

8° *La chromatographie*. — La chromatographie sur

papier a été essayée par plusieurs auteurs et en particulier par Ponder [53], Sansonne [54] et Schapira [55]. Ils arrivent à séparer rapidement les variétés A et F avec du papier Wathman et de la pyridine comme vecteur.

9° *L'alcalino-résistance.* — Depuis la découverte, par Korber, de cette propriété, la technique et l'étude de l'hémoglobine alcalino-résistante ont été reprises par de nombreux auteurs et en particulier par Singer, Amoz et Chernoff. Leur technique consiste à mettre en présence, pendant un temps déterminé, l'hémoglobine avec une solution de soude. Puis on précipite le pigment dénaturé par un réactif floculant les protéines. Après filtration, on dose au spectrophotomètre la quantité de pigment restant.

a) *Technique de Singer* [56]. — On utilise deux réactifs : de la soude N/12 et un réactif floculant constitué par un mélange de 800 ml de sulfate d'ammonium demi-saturé avec 2 ml d'acide chlorhydrique 10 N.

Le sang est recueilli par ponction veineuse, sur oxalate ou héparine. Les globules, après séparation, sont lavés trois fois à l'eau salée isotonique. On prélève 1 volume de ces globules que l'on hémolyse par 1,2 à 1,8 volume d'eau distillée et 0,4 volume de toluène. Après agitation énergique pendant plusieurs minutes, le mélange est centrifugé pendant vingt minutes à 3.000 t./mn. On prélève la couche inférieure qui est rouge et on la filtre. On ajuste, à l'aide d'eau distillée, cette solution d'hémoglobine à environ 10 g p. 100 et on détermine exactement sa concentration. On place dans un tube 1,60 ml de soude N/12. Le tube est mis au bain-marie à 20° pendant plusieurs minutes. On ajoute alors 0,10 ml de la solution d'hémoglobine précédente, on mélange en déclenchant un chronomètre. Après une minute exactement, on ajoute 3,4 ml de la solution précipitante; on retourne six fois le tube pour bien mélanger et on filtre. La quantité d'hémoglobine restant dans le filtrat est dosée au spectrophotomètre à 541 mμ. Tous nos résultats

sont exprimés en gramme d'hémoglobine alcalino-résistante pour 10 g d'hémoglobine totale.

b) *Discussion de la méthode.* — Les auteurs ont montré que :

— La concentration des solutions d'hémoglobine doit être comprise entre 9 et 11 g p. 100, limites entre lesquelles la réaction donne des chiffres identiques;

— La température doit être comprise entre 19° et 21°;

— La concentration de la soude et son *p*H (12,7) ont une importance capitale. En effet, la solution n'étant pas tamponnée, une variation même faible du *p*H de la soude entraîne des différences notables dans la dénaturation alcaline.

Par cette technique, les auteurs ont trouvé, chez l'homme normal, des taux de 0,05 à 0,20 g de variété alcalino-résistante pour 10 g d'hémoglobine totale; dans le sang de cordon, 7,7 à 8 g. Ils ont trouvé des taux anormaux d'hémoglobine alcalino-résistante dans diverses hémopathies comme les anémies pernicieuses non traitées, les anémies chroniques, les leucémies aiguës et chroniques, les maladies aiguës de la moelle.

Singer, Amoz et Chernoff [57] ont poussé plus loin l'étude de l'alcalino-résistance en l'étudiant en fonction du temps. Ils ont remarqué que les courbes de dénaturation alcaline de différents échantillons d'hémoglobine fœtale sont toutes situées dans une zone étroite. Dans les cas d'anémie à cellules falciformes, les courbes sont pour la plupart nettement en dehors de cette zone. D'où ils déduisent que, dans ces cas, il existe plusieurs variétés d'hémoglobine en fonction des individus. De plus, elles sont différentes de l'hémoglobine fœtale bien qu'elles soient, comme elles, alcalino-résistante. Dans les cas de leucémie aiguë et d'anémie chronique, les courbes de dénaturation sont superposables à celles de l'hémoglobine fœtale. Les auteurs pensent, pour expliquer ces variations, à un arrangement

différent des chaînes polypeptidiques dans ces différents types d'hémoglobine.

c) *Propriétés de l'hémoglobine alcalino-résistante.* — Bénard, Dantchev et Gajdos [58, 59] ont fait une étude expérimentale sur l'hémoglobine alcalino-résistante du Lapin soumis à différents traitements anémiants et polyglobulisants. Ils ont suivi leurs animaux par des numérations et des dosages d'hémoglobine totale et alcalino-résistante. A l'état normal, le lapin a de 60 à 80 p. 100 de la variété alcalino-résistante, mais ce taux est constant chez un même animal. Dans l'anémie expérimentale du Lapin, provoquée soit par injection de chlorhydrate de phénylhydrazine, soit par saignée répétée, ils ont trouvé une période de chute des globules rouges et des deux fractions d'hémoglobine; puis, dans la période de régénération, une remontée parallèle de l'hémoglobine totale et des globules rouges. Il est intéressant de constater que cette remontée de l'hémoglobine se fait presque exclusivement aux dépens de la variété alcalino-résistante. Puis avec le temps la variété normale remonte à son tour et on revient à l'état antérieur. Ils en concluent que la régénération de l'hémoglobine se fait presque exclusivement aux dépens de la fraction alcalino-résistante, comme si la synthèse de cette variété par l'organisme était plus facile. Ce fait a été retrouvé par Schapira, Dreyfus et Kruh [61], à l'aide du fer radio-actif.

D'autre part, si on accélère artificiellement la régénération par des injections d'acide follique, par exemple, ou de vitamine B_{12}, on accélère le phénomène sans le changer.

Dans la polyglobulie expérimentale du Lapin, obtenue par injection de vitamine B_{12} ou d'acide follique, les résultats sont différents. Dans ce cas, les deux variétés augmentent parallèlement.

Donc, tout se passe comme si, dans l'anémie, le besoin d'hémoglobine étant urgent, l'organisme faisait la variété la plus facile pour parer au plus pressé; par contre, dans la

polyglobulie, il ne s'agirait que d'une stimulation d'un processus normal. Peut-on extrapoler ces résultats à l'Homme et penser que l'augmentation de l'hémoglobine alcalino-résistante est un signe de régénération ?

Nous avons eu l'occasion de doser l'hémoglobine alcalino-résistante dans quelques hémopathies. Nous avons trouvé, chez 10 malades atteints de leucémie, des taux augmentés dans 50 % des cas. Les quatre maladies de Vaquez que nous avons explorées présentaient toutes une augmentation de cette variété d'hémoglobine.

Nous avons retrouvé expérimentalement la présence d'hémoglobine alcalino-résistante chez un chien que nous avons intoxiqué par une suspension de chlorure de plomb.

Les résultats obtenus peuvent être schématisés dans le tableau suivant :

Dates	Poids en kg	Hb (p. 100)	G. R.	Hb al.-rés.	Hématie gran. baso.	Divers
25-11	28,2	112	5.640.000	0,13	0	»
7-12	24	81	4.660.000	1,20	Présence	Polychromatoph.

Nous voyons donc, dans ce cas d'intoxication aiguë, l'élévation importante de l'hémoglobine alcalino-résistante qui s'accompagne d'une chute de l'hémoglobine totale, d'une anémie et de l'apparition d'hématies à granulations basophiles.

CHAPITRE III

ÉTUDE CRITIQUE ET STATISTIQUE DES RÉSULTATS

Nous avons étudié les variations de quelques tests hématologiques chez les individus exposés aux risques benzol et plomb :

Le taux des globules rouges et blancs;
- de l'hémoglobine totale;
- des polynucléaires neutrophiles;
- des hématies à granulations basophiles;
- des coproporphyrines urinaires.

Ces résultats, extraits des fichiers du Laboratoire de la Caisse régionale de Sécurité Sociale de Bordeaux, ont été soumis aux calculs statistiques.

Nous avons, en outre, dosé la fraction alcalino-résistante de l'hémoglobine totale chez les sujets soumis au risque plomb.

I. — RAPPEL DES DONNÉES STATISTIQUES

Pour chaque élément biologique envisagé, nous avons calculé :

— La moyenne arithmétique M;

— L'écart type σ d'après la formule $\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma (X-M)^2}{N-1}}$

dans laquelle X représente chaque taux individuel et N le nombre de cas de la série;

— L'intervalle de confiance qui va de $M + 2\sigma$ à $M - 2\sigma$ fixant les oscillations normales de l'élément étudié (95 % des cas sont compris entre ces limites si le lot est homogène) ;

— Des tests d'homogénéité permettant de déterminer si la répartition des résultats était réellement gaussienne, c'est-à-dire si les chiffres, tels que moyenne et intervalle de confiance, étaient statistiquement interprétables.

Pour cela, nous avons établi le graphique des fréquences pour chaque valeur de l'élément étudié, puis construit, à partir de ces données expérimentales, la courbe de Gauss théorique, dont les ordonnées Y sont données par la formule $Y = \frac{N\ K}{\sigma} \Phi t$ dans laquelle K est l'intervalle de classe. Φt est donné par des tables en fonction de t défini par $\frac{X - M}{\sigma}$.

Une fois cette courbe théorique établie, nous avons calculé dans quelle mesure les écarts avec les résultats expérimentaux étaient imputables ou non au hasard, à l'aïde du test X^2 de Pearson. $X^2 = \Sigma \frac{(O - C)^2}{C}$, dans laquelle O est le résultat expérimental et C le résultat théorique. Les tables donnent, en fonction du nombre de degrés de liberté, le degré de probabilité pour lequel les écarts courbe théorique - courbe expérimentale sont dus au seul hasard. S'il en est ainsi, X^2 est voisin de 100 p. 100, et on peut conclure que la répartition expérimentale peut être considérée comme gaussienne, et que, par conséquent, le lot étudié est homogène. Sa valeur, du point de vue statistique, est très grande. Dans le cas contraire, ou X^2 est voisin de 0 p. 100, la répartition n'est pas gaussienne et le lot est hétérogène. Les formules classiques ne sont plus applicables et les chiffres obtenus deviennent très critiquables sinon sans valeur.

Nous fixons ainsi, pour chaque élément, son degré d'interprétabilité et, s'il est interprétable, sa moyenne et l'étendue des oscillations permises.

II. — SUJETS NORMAUX

Comme test de référence pour nos calculs statistiques, nous avons fait appel à des individus (hommes ou femmes) ne présentant aucune affection cliniquement décelable et n'ayant jamais été exposés à des toxiques industriels.

A. — Série des femmes normales

Nous sommes parti, pour nos calculs, de 89 femmes. Nous avons obtenu, pour les éléments envisagés, les résultats suivants (fig. 1).

Les globules rouges. — Nous trouvons une moyenne de 4.400.000 hématies au mm^3 avec un écart type de 300.000. Nous avons calculé et tracé la courbe théorique de Gauss et calculé le test X^2 de Pearson qui a une valeur de 95 p. 100. Nous en concluons que les résultats sont très homogènes et que la valeur des chiffres trouvés est grande. Nous pourrons donc utilement les comparer à ceux d'autres séries. Ceci nous permet de fixer les taux normaux de globules rouges, pour la femme, aux valeurs suivantes :

Taux sûrement normaux : entre $\pm \sigma$, soit de 4.100.000 à 4.700.000;

Taux sûrement anormaux : en dehors de $\pm 2\sigma$, soit moins de 3.700.000 ou plus de 5.100.000.

Entre les valeurs de $\pm \sigma$ et $\pm 2\sigma$, les taux ne peuvent être considérés ni comme sûrement normaux, ni comme sûrement anormaux. Ces zones sont donc des intermédiaires ou zones d'alerte. Cette notion prendra toute sa valeur lorsque l'on aura affaire à des sujets exposés.

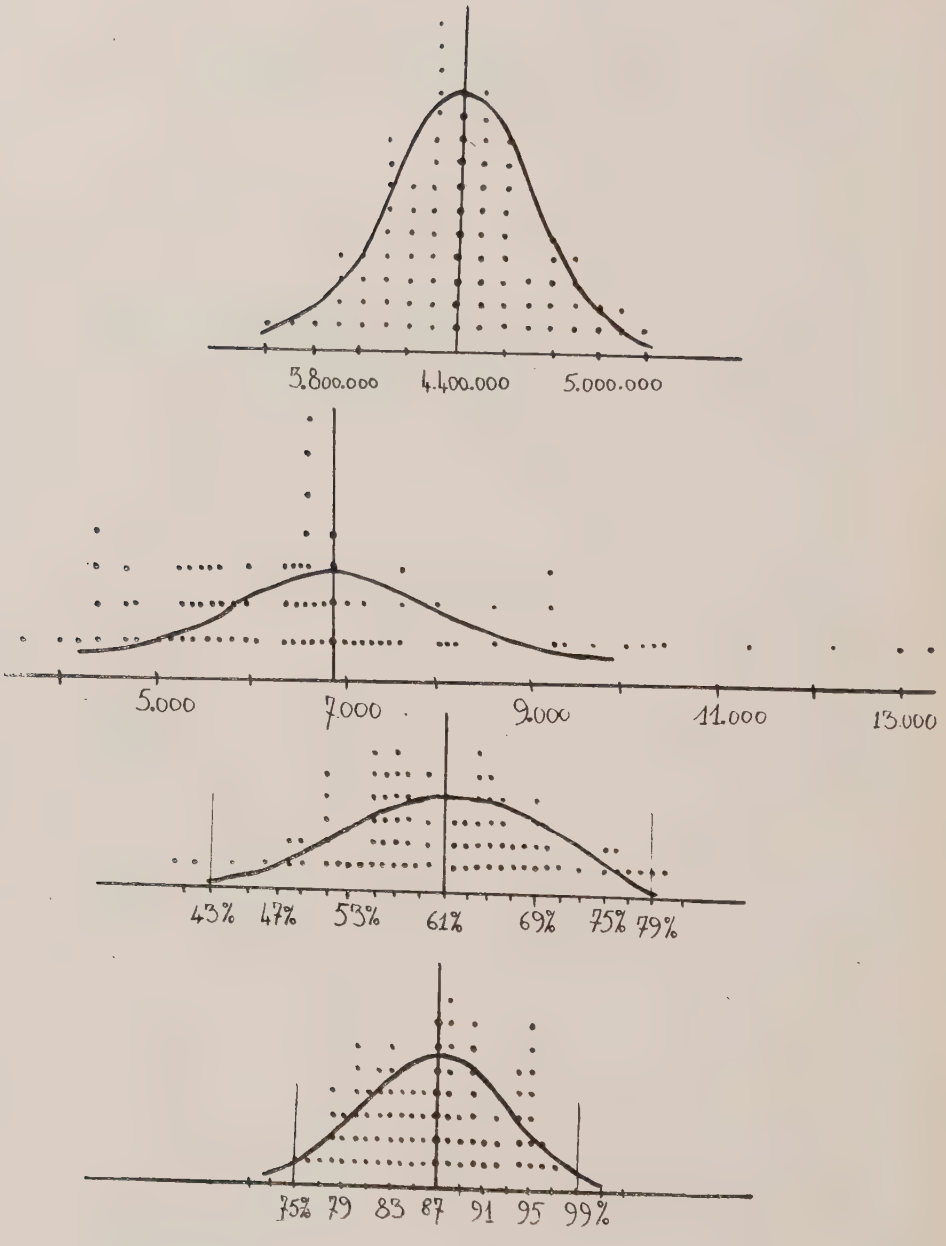


FIG. 1.

Série femmes normales.

De haut en bas : globules rouges, globules blancs, polynucléaires neutrophiles, hémoglobine totale. — *En trait plein :* la courbe théorique correspondant au nombre de cas envisagés.

Les globules blancs. — Nous trouvons une moyenne de 6.900 leucocytes au mm^3 avec un écart type de 1.850. L'intervalle de confiance se situe donc de 3.200 à 10.600. Le test d'homogénéité de Pearson donnant une valeur de 1 p. 100, nous en concluons que la répartition est franchement hétérogène, c'est-à-dire qu'elle n'est pas due uniquement au hasard, mais que d'autres facteurs interviennent dans de fortes proportions. Dans ces conditions, les calculs statistiques ne peuvent s'appliquer à cette détermination, et la valeur de celle-ci est nulle.

Les polynucléaires neutrophiles. — Nous trouvons une moyenne de 61 polynucléaires neutrophiles p. 100 leucocytes avec un écart type de 9, donc un intervalle de confiance allant de 43 à 79 p. 100. L'établissement de la courbe théorique et le calcul du test de Pearson (X^2 = 55 p. 100) montrent que les résultats, bien que légèrement hétérogènes, sont tout de même interprétables.

L'hémoglobine totale. — Nous trouvons une moyenne de 87 p. 100 et un intervalle de confiance de 75 à 99 p. 100. Le calcul donne au test de Pearson une valeur de 49 p. 100. Donc la répartition est légèrement hétérogène, mais les résultats statistiques restent valables.

L'hémoglobine alcalino-résistante (fig. 2). — Nous avons fait des dosages d'hémoglobine alcalino-résistante chez 27 femmes normales, et nous avons trouvé, pour cette détermination, une moyenne de 0,23 g avec un écart type de 0,10. L'intervalle de confiance s'étend donc de 0,03 à 0,43 g. Le nombre de sujets examinés est trop restreint pour pouvoir faire le test d'homogénéité, mais la répartition expérimentale est assez superposable à la courbe théorique calculée. Le lot n'est donc pas hétérogène, et les données statistiques gardent toute leur valeur.

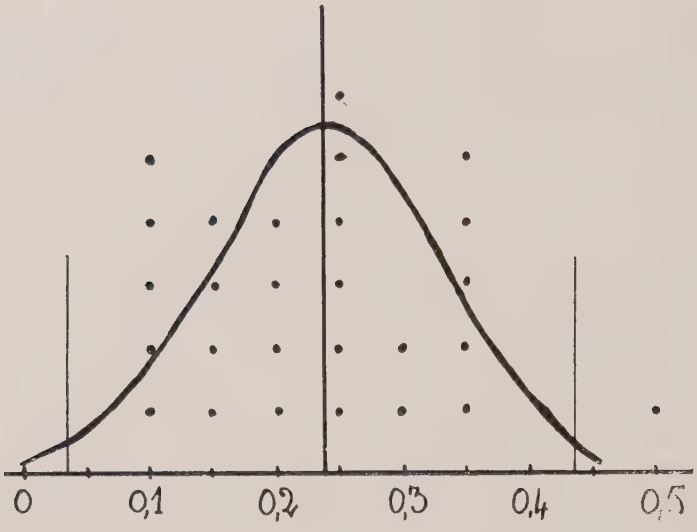


Fig. 2.

Série femmes normales.

Hémoglobine alcalino-résistante.

B. — Série des hommes normaux

Nous avons effectué les mêmes déterminations pour cette série que pour celles des femmes.

Les globules rouges (fig. 3). — Nos calculs ont porté sur 1.267 déterminations. Nous trouvons une moyenne de 4.700.000 hématies au mm^3 et un écart type de 300.000. Les variations physiologiques s'étendent donc de 4.100.000 à 5.300.000. Le test d'homogénéité de Pearson donne une valeur de 95 p. 100, c'est-à-dire que la répartition est très homogène; les résultats trouvés ont donc une grande valeur.

Les globules blancs. — Les calculs ont montré une moyenne de 7.500 leucocytes au mm^3 avec un écart de 650, soit un intervalle de confiance de 6.200 à 8.800. Le test de Pearson donne une valeur de 1 p. 100, ce qui montre que les résultats sont trop hétérogènes pour être statistiquement

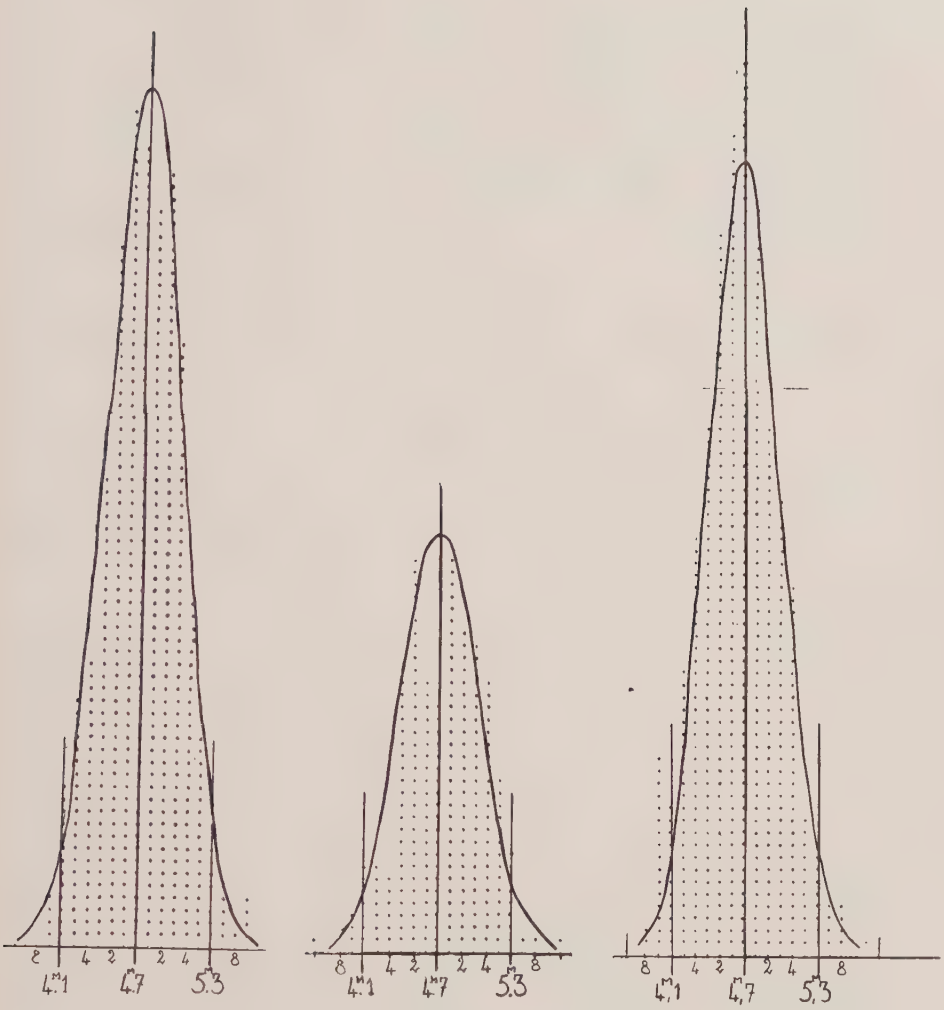


Fig. 3.

Hommes normaux.

Globules rouges.

interprétables. D'ailleurs, la répartition des sujets est nettement différente de la courbe théorique. Cette détermination ne permet pas de tirer de conclusions.

Les polynucléaires neutrophiles (fig. 4). — Nous trouvons pour cette détermination une moyenne de 58 polynucléaires neutrophiles pour 100 leucocytes. L'écart type étant de 9, les limites physiologiques sont donc comprises entre 40 et 76 p. 100. Le test d'homogénéité de Pearson a une valeur de 10 p. 100. La valeur statistique de cette détermination est donc faible.

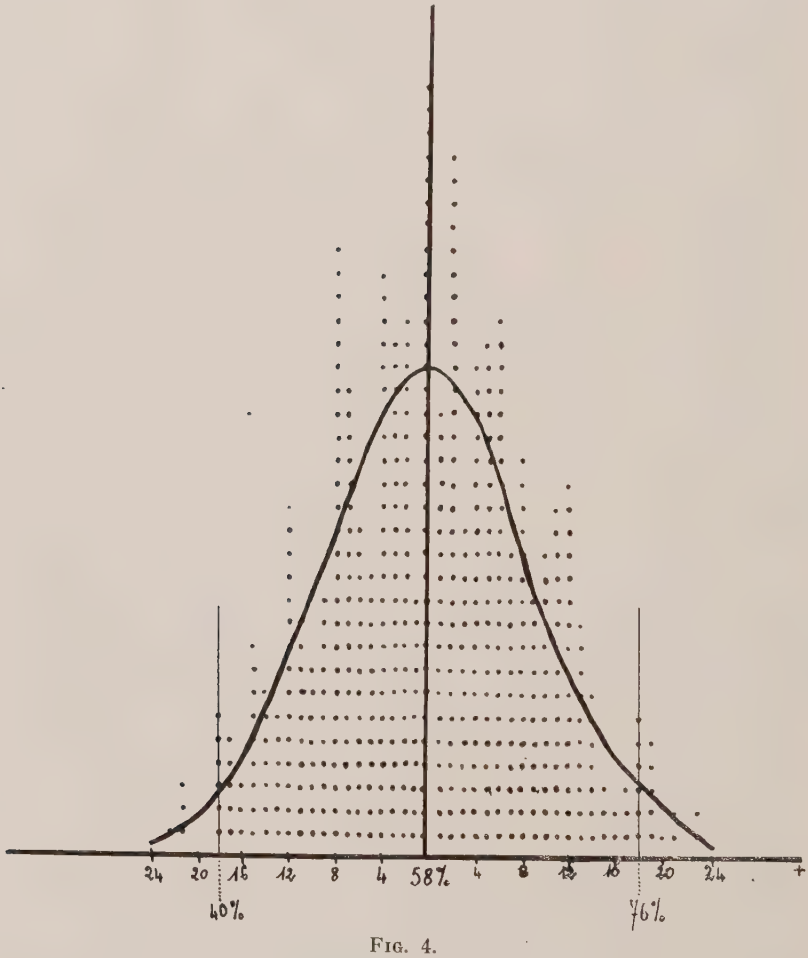


Fig. 4.

Hommes normaux.

Polynucléaires neutrophiles.

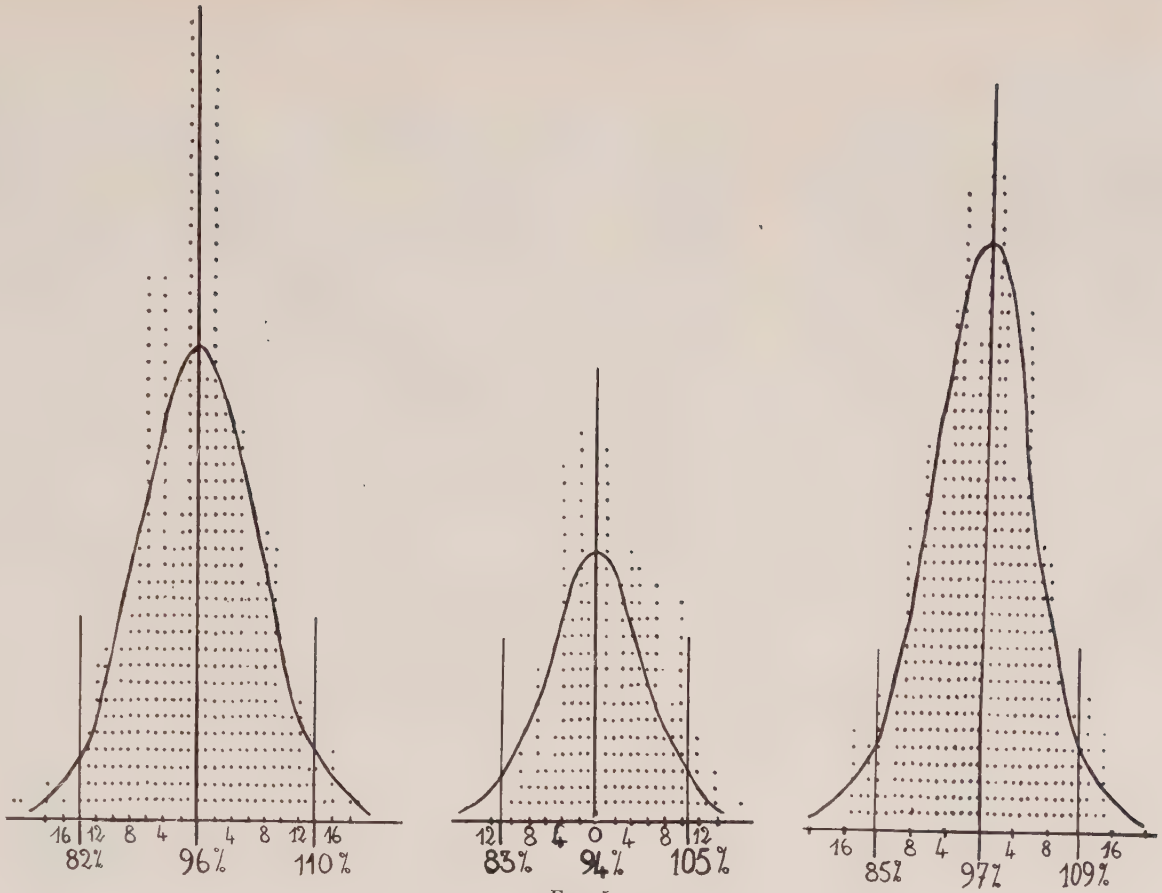


FIG. 5.
Hommes normaux.
Hémoglobine totale.

L'hémoglobine totale (fig. 5). — Nous trouvons pour ce dosage une moyenne de 96 p. 100 avec un écart type de 6. Les valeurs physiologiques sont donc comprises entre 84 et 108 p. 100. Le test d'homogénéité de Pearson a une valeur de 55 p. 100. Le lot, bien que légèrement hétérogène, donne cependant, pour ce test, une interprétabilité quasi certaine mais non absolue.

L'hémoglobine alcalino-résistante (fig. 6). — Nous avons trouvé, pour les 35 hommes normaux étudiés, une valeur moyenne de 0,18 g et un écart type de 0,08. Les variations

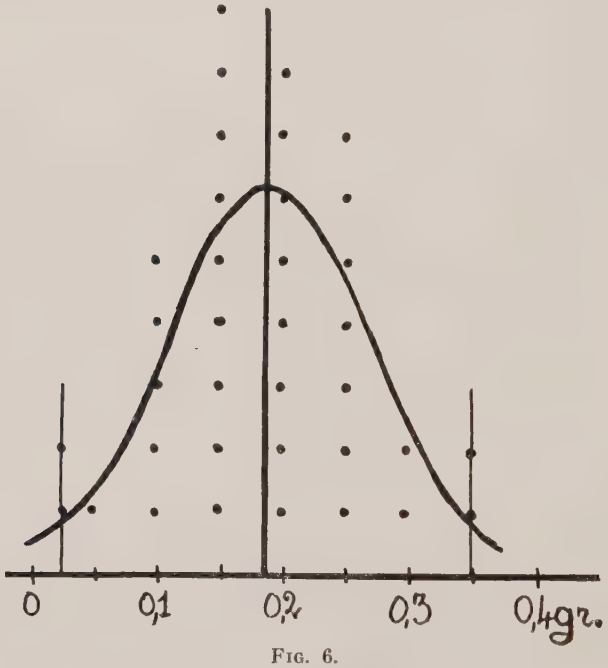


Fig. 6.
Hommes normaux.
Hémoglobine alcalino-résistante.

physiologiques s'étendent donc de 0,02 à 0,34 g. Nous n'avons pas calculé le test d'homogénéité de Pearson, n'ayant pas assez de cas, mais l'examen de la répartition des sujets ne fait pas ressortir d'hétérogénéité évidente par rapport à la courbe théorique calculée.

C. — Conclusion

Les valeurs trouvées pour les différents tests envisagés peuvent être groupées dans le tableau suivant :

	Sexe	Moyenne	Variations physiologiques		
Globules rouges (en mm^3)....	F	4.400.000	3.800.000	à	5.000.000
	M	4.700.000	4.100.000	à	5.300.000
Polynucléaires neutrophiles (en p. 100).....	F	61	43	à	79
	M	58	40	à	76
Hémoglobine totale (en p. 100)	F	87	75	à	99
	M	96	84	à	108
Hémoglobine alcalino-résistante (en g p. 10 g d'Hb totale)	F	0,23	0,03	à	0,43
	M	0,18	0,02	à	0,34

Nous ne faisons pas figurer les leucocytes dans ce tableau, car les résultats sont, nous l'avons vu, sans valeur.

Nous trouvons donc, pour ces séries, des normes très voisines de celles mentionnées par les différents auteurs qui se sont occupés de la question, en particulier Gillon, Gaultier et Favre [62].

Nous remarquons deux choses :

1° Les taux normaux sont différents chez l'homme et chez la femme pour les hématies et pour l'hémoglobine totales. Cette notion est importante à considérer, car une même valeur peut avoir une signification différente selon le sexe auquel on a affaire. Par exemple, un taux de 4.000.000 d'hématies est parfaitement normal chez une femme, alors qu'il constitue un taux sûrement abaissé pour un homme. De même, un chiffre de 5.000.000 est sûrement normal pour un homme, alors qu'il est à peu près sûrement augmenté chez une femme. Il en est de même pour l'hémo-

globine totale, la différence entre les deux sexes étant d'environ 10 p. 100. Notons au passage que le taux de 100 p. 100 arbitrairement choisi comme normal (correspondant en général à 16 g d'hémoglobine p. 100) est nettement supérieur à la moyenne trouvée habituellement sur une population importante. C'est une notation commode, mais qu'il serait plus exact de remplacer par celle donnant le taux en gramme d'hémoglobine pour 100 ml de sang.

Par contre, le pourcentage des polynucléaires neutrophiles et le taux de l'hémoglobine alcalino-résistante sont les mêmes dans les deux sexes.

2° Quelle est la valeur respective de ces déterminations ?

En nous basant sur le test d'homogénéité de Pearson, nous voyons que :

— Pour les globules rouges, le test a une valeur de 95 p. 100. Cette détermination a donc une grande valeur et on peut utilement se baser sur les chiffres de ces séries normales pour interpréter d'autres séries. Donc, malgré l'imprécision apparente de la technique, nous voyons qu'il suffiit de considérer les chiffres trouvés, à 100.000 près, comme nous l'avons fait, pour avoir des données parfaitement valables;

— Pour l'hémoglobine totale, le test a une valeur de 50 à 55 p. 100. Les résultats ont donc moins de valeur que ceux des hématies; ils sont néanmoins interprétables;

— Pour les polynucléaires neutrophiles, où X^2 égale 40 à 50 p. 100, il en est de même.

Quant à l'hémoglobine alcalino-résistante, la courbe de répartition des sujets étant superposable à la courbe théorique, nous pouvons dire que cette détermination est statistiquement interprétable.

Pour les leucocytes, où X^2 égale 5 p. 100, les calculs statistiques ne peuvent s'appliquer. On ne peut donc fixer les limites de variations physiologiques. D'ailleurs, dans nos séries normales, les valeurs extrêmes vont de 3.000 à 12.000 leucocytes au mm^3.

Donc, on peut fixer l'échelle des valeurs de ces tests de la façon suivante :

Globules rouges : très bon test;

Hémoglobine : bon test;

Polynucléaires neutrophiles : test moyen;

Globules blancs : sans valeur.

Ces faits avaient été mis en évidence par Gillon et Gaulthier [62] qui trouvent la même échelle des valeurs que nous entre les trois tests qu'ils pratiquent (hématies, polynucléaires neutrophiles, leucocytes).

Nous y ajoutons, à sa place, le dosage de l'hémoglobine totale. Ces auteurs font également bien ressortir, en plus de la grande valeur du taux des hématies, le peu de dispersion observé dans le résultat de ces dosages, ce qui en rend l'interprétation plus facile.

Différents facteurs pouvant jouer sur ces moyennes ont été étudiés, en particulier par Pardon [63] qui conclut que :

— Les variations saisonnières ne sont pas interprétables;

— Les variations post-prandiales ne le sont que pour le taux des leucocytes. Cette variation ne nous gênera pas puisque le taux des globules blancs étant lui-même ininterprétable, nous n'en tenons pas compte.

III. — SUJETS SOUMIS A DES VAPEURS D'HYDROCARBURES

Les résultats rapportés ici concernent 89 femmes employées comme colleuse dans une usine de chaussures. La colle utilisée est à base de divers solvants organiques comme le toluène et le trichloéthylène, beaucoup moins toxiques que le benzène. Les sujets de cette série ne présentent aucune manifestation clinique, ni signe biologique d'imprégnation.

Nous avons obtenu, pour cette série, les résultats suivants (fig. 7) :

Globules rouges. — Nous avons la même moyenne que pour la série normale; cependant, si on trace la courbe théorique normale pour un nombre de cas identiques, on s'aperçoit qu'il existe un certain nombre de points en dehors de cette courbe, quelques-uns vers les taux élevés, la plupart vers les taux bas. Les écarts entre la courbe théorique et la répartition de cette série font ressortir un test à 5 p. 100 montrant bien la différence des deux séries. Bien qu'aucun taux trouvé ne soit franchement anormal, on voit, par cette façon d'exprimer les résultats, les conséquences de ces solvants sur la numération globulaire.

Globules blancs. — Nous avons vu le manque d'homogénéité de la série normale, il n'y a donc rien à tirer de la comparaison des deux séries.

Hémoglobine totale. — La moyenne trouvée est normale, mais nous observons entre la répartition des taux de cette série et la courbe théorique normale la même différence que pour celle observée pour les globules rouges. Donc, les effets de la nuisance hydrocarbure se traduisent également dans la répartition des taux d'hémoglobine.

Polynucléaires neutrophiles. — Là encore, malgré un taux moyen normal, nous observons une répartition voisine de celle trouvée pour les hématies et l'hémoglobine.

IV. — SUJETS SOUMIS A LA NUISANCE DU PLOMB

Nous envisagerons tout d'abord les sujets qui, bien qu'étant au cours de leur travail au contact du plomb, ne présentent pas de signe biologique d'imprégnation (absence de granulation basophile et élimination de coproporphyrine normale).

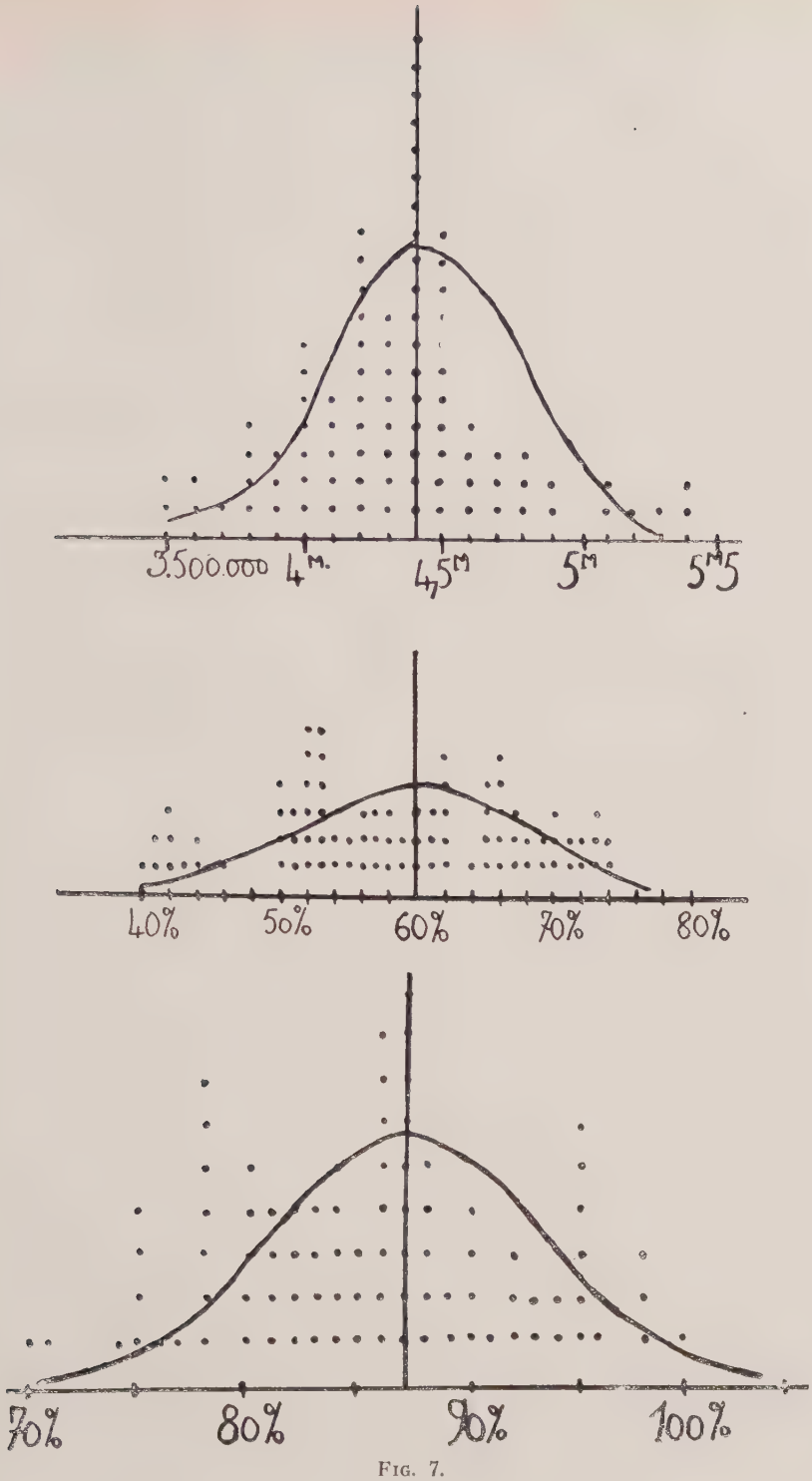


FIG. 7.

Femmes exposées au risque benzol.

De haut en bas : globules rouges, polynucléaires neutrophiles, hémoglobine totale. — *En trait plein :* la courbe théorique normale pour un même nombre de cas.

Dans la série des hommes, il n'y a aucune différence avec la série normale pour les différents examens pratiqués.

Dans la série de 70 femmes que nous avons explorées, nous trouvons :

Pour les globules rouges (fig. 8), une moyenne à 4.330.000,

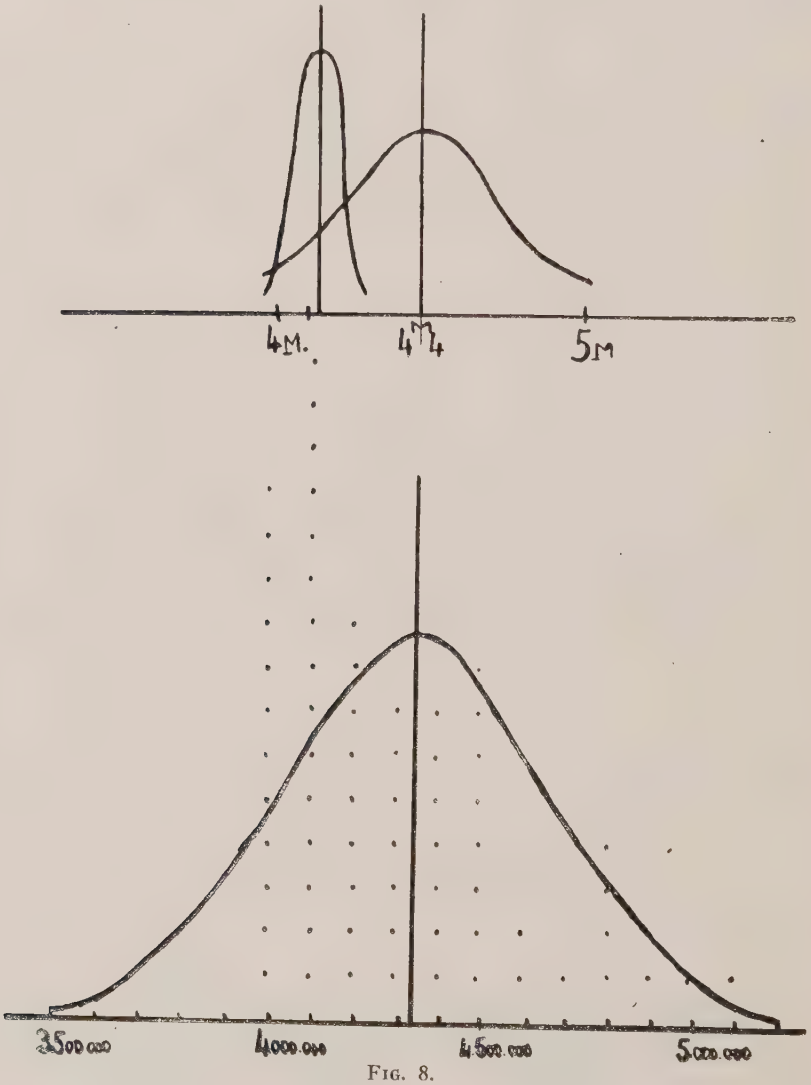


FIG. 8.

Femmes exposées au risque plomb sans signe d'imprégnation.
Globules rouges.

donc pratiquement normale, mais nous notons une répartition franchement anormale. D'autre part, cette répartition est hétérogène (test X^2 moins de 1 p. 100). Si nous considérons les 50 cas compris à l'intérieur de la courbe théorique normale, nous leur trouvons des caractéristiques normales. Si nous faisons maintenant la même chose pour les 20 cas situés au-dessus de la courbe, nous trouvons une moyenne de 4.050.000 et un écart type de 100.000. Donc, tout se passe comme si cette série pouvait se diviser en deux parties : une première normale, comprenant les trois quarts des individus, et une seconde, à la limite inférieure de la normale, comprenant le quart des sujets.

Pour l'hémoglobine totale (fig. 9), la moyenne trouvée est de 86 p. 100, donc normale. Nous notons ici aussi une répartition hétérogène (test X^2 à 5 p. 100) qui se rapproche de celle des globules rouges.

Pour l'hémoglobine alcalino-résistante (fig. 9), nous obtenons une moyenne de 0,18 g et une répartition pratiquement identique à celle des sujets normaux. Le calcul montre qu'il n'y a pas de différence statistique interprétable entre les deux séries.

Envisageons maintenant les sujets soumis à la nuisance du plomb et présentant des signes biologiques d'imprégnation (coproporphyrinurie augmentée et présence d'hématies à granulations basophiles).

Nous n'avons malheureusement pas disposé d'assez de sujets féminins pour établir une statistique valable.

Nous avons pu réunir 193 hommes remplissant ces conditions. Nous trouvons :

Pour les globules rouges (fig. 10), la moyenne se situe à 4.600.000 avec un écart type de 400.000. Le test d'homogénéité de Pearson est inférieur à 1 p. 100., donc la répartition est nettement différente de la normale. Si nous traçons la courbe théorique normale correspondant au nombre de cas envisagés, nous voyons que les 4/5es des cas de cette série sont à l'intérieur de cette courbe, donc

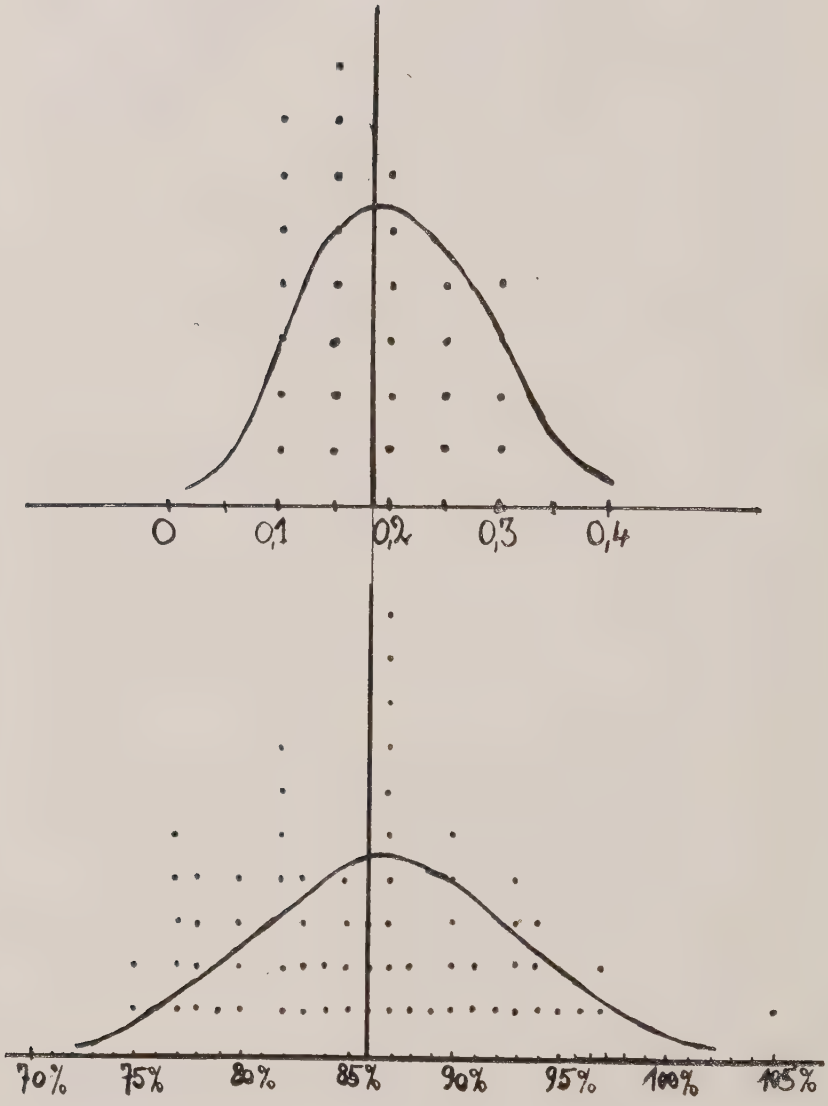


Fig. 9.

Femmes exposées au risque plomb sans signe d'imprégnation.
En haut : hémoglobine alcalino-résistante. - *En bas :* hémoglobine totale.

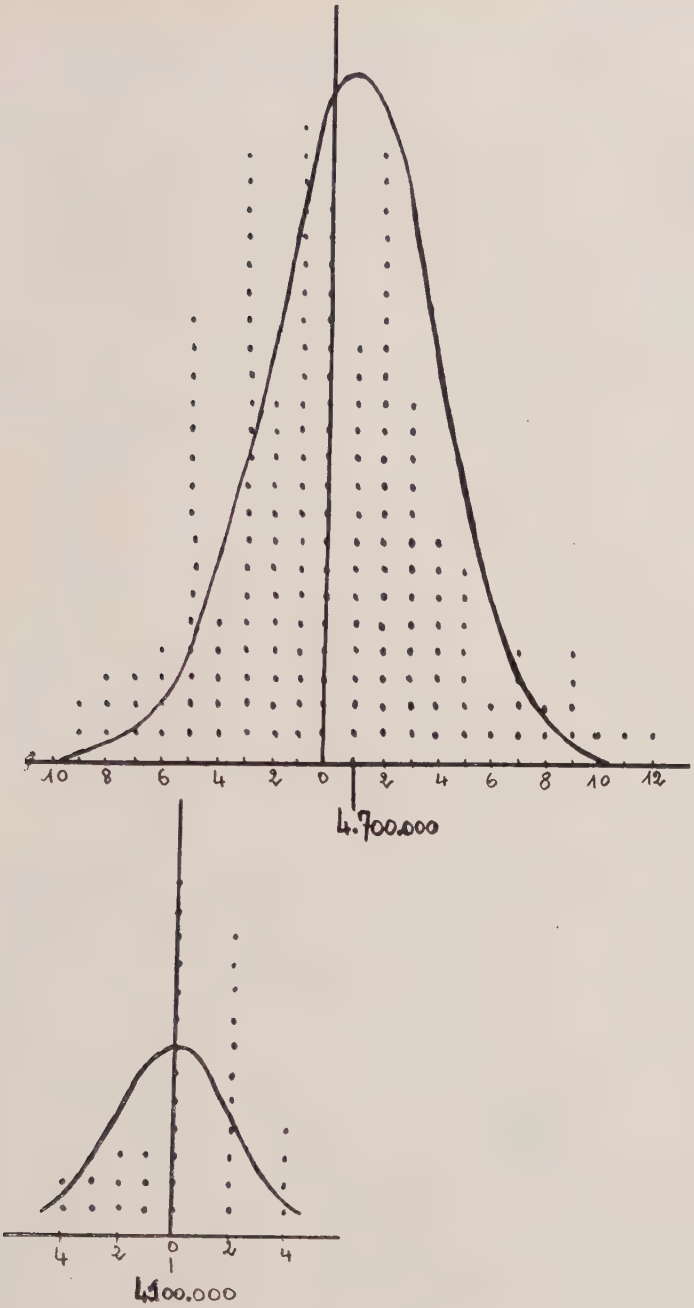


FIG. 10.

Hommes soumis au risque plomb et présentant des signes d'imprégnation.
Globules rouges.

En trait plein, en haut : courbe théorique normale pour un même nombre de sujets.

normaux; le 1/5e restant, situé en dehors de celle-ci, a aussi une représentation gaussienne autour d'une moyenne de 4.100.000. Nous voyons que l'on peut individualiser dans cette série deux populations : une première normale, comprenant les 4/5es des sujets, et une autre située à l'extrême limite inférieure des variations physiologiques et comprenant 1/5e des cas.

Pour l'hémoglobine totale (fig. 11), la moyenne trouvée

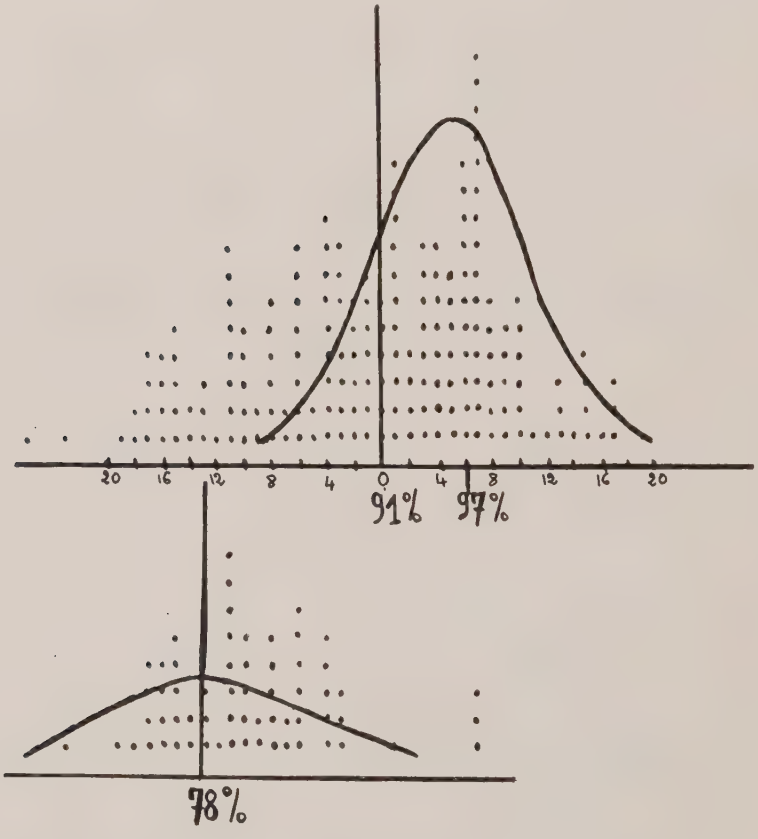


Fig. 11.

Hommes soumis au risque plomb et présentant des signes d'imprégnation.
Hémoglobine totale.
En trait plein : la courbe théorique normale.

est de 91 p. 100, et la répartition franchement hétérogène (test de Pearson inférieur à 1 p. 100). Là encore, on peut, au moyen de la courbe théorique normale, individualiser deux populations : une première normale, comprenant les 2/3 des individus, et une deuxième, de répartition sensiblement gaussienne (moyenne : 78 p. 100, soit à la limite inférieure des variations physiologiques), comprenant 1/3 des sujets.

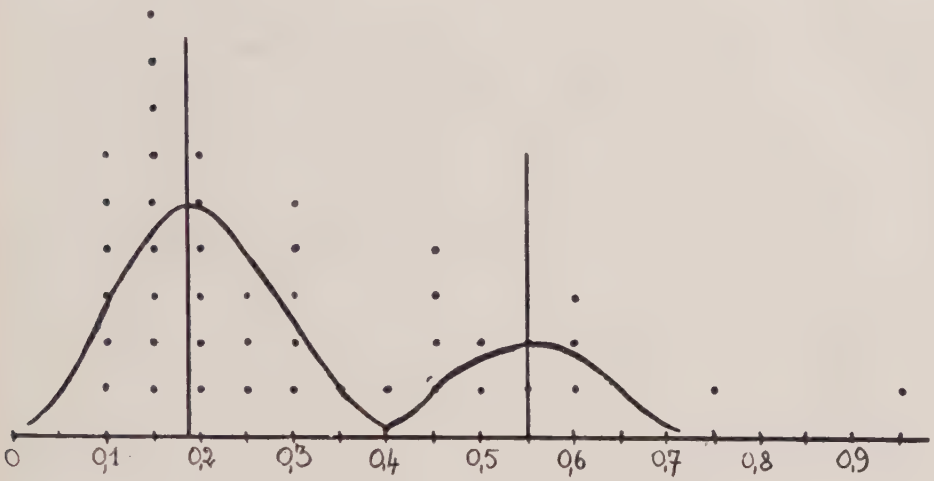


Fig. 12.

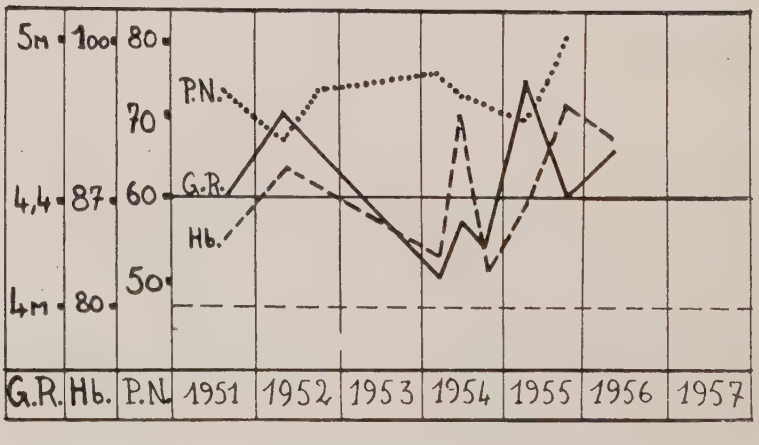
Sujets soumis au risque plomb et présentant des signes d'imprégnation. Hémoglobine alcalino-résistante.

Pour l'hémoglobine alcalino-résistante (fig. 12), nous n'avons pas séparé les hommes des femmes, leurs taux normaux étant superposables. Nous trouvons, pour les 44 cas que nous avons explorés, une moyenne de 0,30 g, donc nettement supérieure à la normale. De plus, la répartition est nettement différente de celle des séries normales. Nous pouvons individualiser, comme pour l'hémoglobine totale, deux populations : une normale, comprenant les 2/3 des sujets, et une anormale, comprenant 1/3 des sujets.

V. — COMMENTAIRES

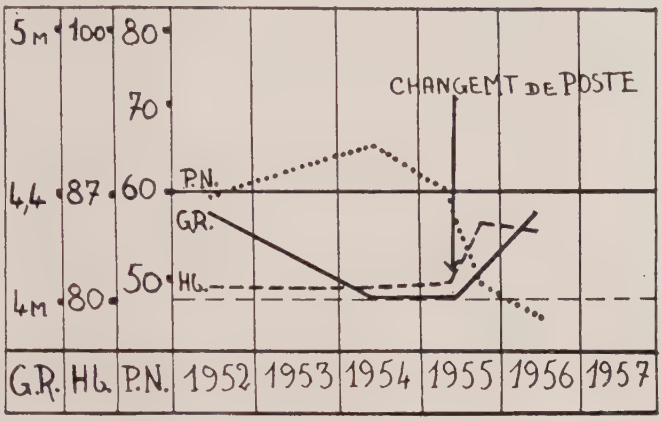
A. — Retentissement hématologique des solvants organiques

Nous avons vu que la répartition est anormale dans la série exposée aux vapeurs d'hydrocarbures. Il y a, en effet, augmentation des cas situés aux deux extrémités de la courbe (anémie et polyglobulie), signes d'ailleurs classiques du benzolisme. Les variations sont tout de même minimes et restent dans le cadre des normes physiologiques. Si nous examinons maintenant les variations individuelles des globules rouges, hémoglobines, polynucléaires neutrophiles en fonction du temps, nous voyons que, dans la plupart des cas, les chiffres oscillent plus ou moins largement autour de la moyenne, tout en restant le plus souvent dans les limites des taux sûrement normaux. Il semble donc que, dans ces cas, l'organisme s'adapte bien et réagit spontanément à l'atteinte des solvants; les oscillations étant le résultat des deux phénomènes inverses : agression et réparation.



Dans d'autres cas, au contraire, on voit les courbes de variations constamment basses, montrant par là que la

réparation se fait mal quoique ces sujets ne présentent aucun signe clinique ou biologique d'intoxication. Il s'agit le plus souvent de sujets déficients (affections chroniques, grossesse).



De tels individus sont à surveiller de très près, bien que leurs taux soient normaux, car l'expérience montre qu'ils font fréquemment des accidents si on ne les écarte pas rapidement du milieu. A cette condition, ils réintègrent rapidement des valeurs normales. D'après l'échelle des valeurs que nous avons trouvées, c'est le taux des globules rouges qui est le plus significatif. Donc les sujets présentant des chiffres voisins de 4.100.000 à 4.000.000 à deux examens consécutifs sont à séparer si l'on ne veut pas risquer des accidents ultérieurs.

Nous voyons donc que les dérivés organiques utilisés actuellement sont bien moins toxiques que le benzène, mais qu'une surveillance médicale et biologique étroite demeure indispensable pour dépister à un stade infra-clinique et infra-biologique les individus en état de déficience qui réagissent mal à ces produits et risquent ultérieurement de faire une intoxication caractérisée.

B. — Retentissement hématologique de la nuisance du plomb

Dans le cas où il n'y a aucun signe d'imprégnation par le toxique, les ouvriers masculins se comportent strictement comme des gens normaux.

Par contre, chez les femmes ne présentant aucun signe d'imprégnation, nous avons trouvé une répartition anormale. Nous avons vu que l'on pouvait isoler deux groupes d'individus : d'une part, un groupe normal, comprenant les 3/4 des sujets et, d'autre part, un groupe dont la moyenne oscille autour de 4.100.000 et représentant 1/4 des sujets. Ce fait est différent de celui rencontré chez les ouvrières soumises aux solvants organiques, il est vraisemblablement imputable au plomb. Ceci montre qu'une partie des individus ont une imprégnation discrète, non décelable cliniquement ou même biologiquement. Pourquoi 1/4 seulement arrive à ce stade, alors que l'exposition du lot est à peu près identique. Peut-être par susceptibilité individuelle au toxique ou par diminution de la résistance générale aux agressions.

Ce fait, mis en évidence pour les globules rouges, se retrouve, en un peu moins net, pour l'hémoglobine.

Par contre, la moyenne et la répartition des cas pour l'hémoglobine alcalino-résistante sont strictement normales.

Dans les cas où on observe des signes d'imprégnation par le toxique, les constatations faites précédemment sont légèrement différentes. Si nous retrouvons la même répartition en deux populations pour les femmes, celle-ci peut aussi être mise en évidence chez les travailleurs hommes.

Pour les globules rouges, par exemple, la population masculine est divisible en deux parties : les normaux, d'une part, comprenant les 4/5es des sujets, et les autres, dont la numération oscille autour de 4.100.000.

Pour l'hémoglobine totale, les résultats sont superposables, mais la proportion des deux populations est de 2/3 pour la normale et 1/3 pour l'anormale.

Pour l'hémoglobine alcalino-résistante, il en est de même. Il est intéressant de constater *que la même proportion d'individus ont une hémoglobine totale diminuée et une hémoglobine alcalino-résistante augmentée.*

Quelle est la signification de cette augmentation de l'hémoglobine alcalino-résistante ? On peut l'interpréter de deux façons : soit comme la conséquence de l'imprégnation toxique, soit comme un reflet du processus de régénération du pigment sanguin. Nous pensons que la dernière hypothèse est la plus vraisemblable, car il existe une même proportion d'individus à hémoglobine totale basse et à hémoglobine alcalino-résistante élevée. Ceci semble montrer que ce sont les individus ayant besoin de régénérer qui font la variété alcalino-résistante. Cette hypothèse est assez en accord avec les idées des auteurs ayant étudié la signification des deux variétés d'hémoglobine.

Nous avons cherché les rapports pouvant exister entre le taux de l'hémoglobine alcalino-résistante et les différents tests pratiqués. Il ne semble pas qu'il y ait de relations étroites entre cette variété d'hémoglobine et les quatre éléments envisagés.

C. — Conclusion

Nous voyons, d'après ce qui précède, que les nuisances dues aux quelques toxiques industriels étudiés existent bien avant les symptômes cliniques de la maladie professionnelle. Nous avons vu également comment les mettre en évidence grâce aux calculs statistiques, et les différentes formes par lesquelles elles se traduisent en fonction du toxique et du sexe.

Nous voyons donc que, malgré les mesures de prévention prises, malgré la diminution des maladies professionnelles confirmées, il n'en demeure pas moins que les contrôles biologiques restent indispensables pour pouvoir suivre l'évolution sanitaire des sujets exposés et d'agir dès que les taux pratiqués atteignent les cotes d'alerte.

VI. — APPLICATIONS

Pour suivre facilement et rapidement l'évolution des constituants sanguins importants, nous proposons d'établir pour chaque ouvrier une fiche comportant trois parties : une partie centrale correspondant aux variations sûrement

G. R.	Hb (p. 100)	P. N. (p. 100)	1952	1953	1954	1955	1956	1957	1958	1959
	100	80								
4.700.000		70	....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	....
	90									
4.400.000		60								
4.100.000		50	.....	.....	.....	....	.....	.....	.....	.....
	80									
3.700.000		40								

Entreprise : ..... Nom : ..... Prénom : .....

Type de fiche pour ouvrière.

G. R.	Hb (p. 100)	P. N. (p. 100)	1952	1953	1954	1955	1956	1957	1958	1959
5.300.000	110	80								
5.000.000		70	.....	.....	.....	.....	.....	....	.....	....
	100									
4.700.000		60								
4.400.000		50	.....	....	.....	....	....	....	.....	.....
	90									
4.100.000		40								

Entreprise : ..... Nom : ..... Prénom : .....

Type de fiche pour ouvrier.

normales ($\pm \sigma$) ; une partie supérieure correspondant aux taux ($+\sigma$ à $+ 2\sigma$), et une partie inférieure correspondant aux taux ($-\sigma$ à $- 2\sigma$). On porte ainsi sur cette fiche les valeurs trouvées pour les différents tests pratiqués en fonction du temps.

Il est évident, d'après ce qui précède, que nous attachons une plus grande valeur au taux des globules rouges. Ceux de l'hémoglobine et des polynucléaires neutrophiles demandent à être interprétés.

De même, nous pouvons envisager une fiche d'usine pour l'ensemble d'une population. Les variations admises autour de la moyenne sont de $M \pm 2 \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$, Elle permettra de se rendre compte rapidement de l'état sanitaire général de l'usine. S'il apparaissait une chute dans les moyennes, il faudrait en rechercher la cause : prévention accidentellement défectueuse, emploi de nouveaux produits plus toxiques, mesure de surveillance ou d'hygiène à prendre.

G. R.	Hb (p. 100)	P. N. (p. 100)	1952	1953	1954	1955	1956	1957	1958	1959
4.480.000		63	.....	.....	....	....	....	....	....	....
	88									
		62								
4.400.000	87	61	—	—	—	—	—	—	—	—
	86	60								
		59	.....	....	....	....	.....	.....	.....	....
4.300.000										
			Zone d'alerte.							

CONCLUSIONS

Nous nous proposons, dans ce travail, d'envisager la valeur des différents tests hématologiques dans le dépistage de quelques maladies professionnelles.

Nous avons fait un rappel des principales techniques de dosage des éléments suivants : globules rouges, leucocytes, polynucléaires neutrophiles, hémoglobine totale et alcalino-résistante, comptage des hématies à granulations basophiles et coproporphyrines urinaires, en insistant sur les hémoglobines.

Nous avons établi ensuite, à l'aide des données statistiques, les taux normaux pour les tests envisagés en fonction du sexe.

Nous avons étudié plusieurs séries de sujets exposés à différents toxiques industriels (hydrocarbures, plomb).

Les sujets exposés au risque du benzol, bien que n'ayant aucun signe biologique d'imprégnation, ont une répartition différente de la normale. Certains d'entre eux ont tendance à se maintenir à des taux voisins de la limite inférieure normale avec les risques que cela comporte. Ceci est surtout net pour les globules rouges.

Chez les sujets exposés au risque du plomb, nous avons vu des réactions différentes dans les séries hommes et femmes. Les premiers n'ont une répartition anormale que s'ils présentent des signe biologiques d'imprégnation, alors que les femmes ont une répartition anormale du seul fait qu'elles travaillent dans le plomb.

A la suite de la découverte d'hémoglobine alcalino-résis-

tante dans un cas d'intoxication aiguë par le plomb, nous avons voulu nous rendre compte de la valeur de ce test chez les sujets présentant des signes biologiques d'imprégnation. Nous avons effectivement trouvé, chez ces sujets, une augmentation nette de l'hémoglobine alcalino-résistante dans un tiers des cas correspondant à une diminution de l'hémoglobine totale dans la même proportion.

Nous avons aussi retrouvé expérimentalement cette augmentation de l'hémoglobine alcalino-résistante chez le Chien intoxiqué par un sel de plomb.

Malheureusement, la proportion d'hémoglobine alcalino-résistante, dans ces cas, est trop faible pour être détectée par spectrophotométrie ou par électrophorèse, comme cela est possible lorsque l'on a affaire à des quantités importantes de cette variété d'hémoglobine (sang de cordon, anémie de Cooley).

Nous avons établi, grâce aux calculs statistiques, la valeur respective des différents examens pratiqués. C'est le taux des globules rouges qui constitue le test le plus sensible et le plus fidèle. Viennent ensuite les hémoglobines et, enfin, les polynucléaires neutrophiles. Le taux des leucocytes est sans valeur statistiquement interprétable.

Nous avons, enfin, comme application, construit une fiche individuelle et une fiche d'usine permettant de suivre, en fonction du temps, l'évolution sanitaire d'une population.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu :

Le Doyen,

R. SIGALAS.

Vu, bon à imprimer :

Le Président,

E. AUBERTIN.

Vu et permis d'imprimer :

Bordeaux, le 20 Juin 1956

Le Recteur,

E. DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE

1. Mallarmé & Tilquin. — *Le Sang*, 1948, **19**, 282.
2. Borin. — *Le Sang*, 1948, **19**, 408.
3. Gowers. — *The Lancet*, 1878, **2**, 882.
4. Palmer. — *Journ. Biol. Chem.*, 1918, **33**, 119.
5. Haldane. — *Journ. Physiol.*, 1901, **26**, 497.
6. Sahli. — *Lehrbrüh Klin. Untersuchungen*, Leipzig, 1931.
7. Newcomer. — *Journ. Biol. Chem.*, 1919, **37**, 465, et 1923, **55**, 569.
8. Cohen & Smith. — *Journ. Biol. Chem.*, 1919, **39**, 489.
9. Wu. — *Journ. Biochem.*, 1922, **2**, 173.
10. Haveman. — *Klin. Woch.*, 1940, 503.
11. Burker. — *Verhandl. D. Ges. Inn. Med.*, 1941, **52**, 351.
12. Stadie. — *Journ. Biol. Chem.*, 1920, **41**, 237.
13. Dognon. — *Le Sang*, 1940, **14**, 550.
14. Van Slyke & Niell. — *Journ. Biol. Chem.*, 1924, **61**, 523.
15. Van Slyke & Hiller. — *Journ. Biol. Chem.*, 1928, **78**, 807.
16. Nicloux. — *C. R. Soc. Biol.*, 1914, **75**, 57.
17. Fleury & Marque. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1925, **11**, 1929.
18. Fontes & Thivolle. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1923, **5**, 325.
19. Lapicque. — Thèse Doct. Sciences Naturelles, Paris, 1894.
20. Wong. — *Journ. Biol. Chem.*, 1928, **77**, 409.
21. Henry. — *Ann. Biol. Clin.*, 1945, **3**, 101.
22. Heilmeyer & Plotner. — *In* Techniques de laboratoire, Loiseleur. Masson & C^{ie}, édit., Paris.
23. Heilmeyer. — *In* Hémoglobine et pigments apparentés, Bénard, Gajdos et Tissier. Masson & C^{ie}, édit., Paris, 1949.
24. Albahary. — *Le Sang*, 1953, **24**, 6, 539.
25. Fischer. — *Handb. d. biol. arbeitsmethoden von abderhaden*, p. 169.
26. Schein. — *Abeitschütz*, 1943, p. 366.
27. Coste, Tissier (M^{lle}) & Pelou. — *Soc. Méd. Trav. et Hyg.*, 1944, **17**, 7.
28. Greinstein & Watson. — *Journ. Biol. Chem.*, 1945, **147**, 675.
29. Vigliani, Angeleri & Sano. — *Arch. per le Sc. med.*, 1938, **65**, 423.
30. Watson. — *Blood*, 1946, **1**, 99.
31. Kench. — *Biochem. Journ.*, 1942, **36**, 384.
32. Aubertin, Dulong de Rosnay, Labadie & Tavernier. — *Journ. de Méd. de Bordeaux*, 1954, **131**, 776.

33. Van der Schaaf & Huisman. — *Rev. Trav. Chim. Pays-Bas*, 1955, **74**, 5, 563.
34. Singer, Chernoff & Amoz. — *Blood*, 1952, **7**, 1, 47.
35. Roche & Derrien. — *Le Sang*, 1953, **24**, 2, 97.
36. Roche, Derrien & Roques. — *C. R. Soc. Biol.*, 1952, **146**, 689.
37. Roche, Derrien, Gallais & Roques. — *C. R. Soc. Biol.*, 1952, **146**, 889.
38. Roche & Derrien. — *Le Sang*, 1953, **24**, 2, 97.
39. Ferville. — Dosage de l'hémoglobine dans les anémies expérimentales et en clinique. Thèse Méd., Bordeaux, 1935.
40. Heidelberger & Landsteiner. — *Journ. Gén. Physiol.*, 1924, **6**, 131.
41. Derrien & Laurent. — Acad. Sciences, séance du 25 juillet 1955.
42. Beaven, Hoch & Holiday. — *Biochem. Journ.*, 1951, **49**, 374.
43. Perrati, Borello, Turco & Larisetto. — *Hematol. Arch.*, 1955, **39**, 5, 341.
44. Pauling, Itano, Singer & Wells. — *Sciences*, 1949, **110**, 543.
45. Wells & Itano. — *Journ. Biol. Chem.*, 1951, **188**, 65.
46. Rich. — *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 1952, **38**, 187.
47. Spaet. — *Journ. Lab. Clin. Méd.*, 1953, **41**, 1, 161.
48. Larson & Ranney, 1953, **32**, 11, 1070.
49. Motulsky, Milton & Durrum. — *Blood*, 1954, **9**, 9, 897.
50. Bergren & Sturgeon. — *Acta Hematol.*, 1954, **12**, 3, 160.
51. Cabannes & Portier. — *C. R. Soc. Méd. Hóp. Alger*, 30 avril 1954.
52. Cabannes & Portier. — *Pédiatrie*, 1955, **10**, 5, 539.
53. Ponder. — *Rev. Hématol.*, 1952, **7**, 311.
54. Sansonne. — *Minerva pediatrica*, 1951, **3**, 14, 1.
55. Schapira. — *C. R. Acad. Sciences*, 1949, **228**, 1824.
56. Singer, Amoz, Chernoff & Singer. — *Blood*, 1951, **6**, 5, 413.
57. Singer, Amoz, Chernoff & Singer. — *Blood*, 1951, **6**, 5, 429.
58. Bénard, Dantchev & Gajdos. — *Le Sang*, 1954, **25**, 3, 266.
59. Bénard, Dantchev & Gajdos. — *Le Sang*, 1954, **25**, 78.
60. Drabkin. — *Journ. Biol. Chem.*, 1946, **164**, 703.
61. Schapira, Dreyfus & Kruh. — *Le Sang*, 1953, **24**, 142.
62. Gillon, Gaulthier & Favre. — *Le Sang*, 1950, **21**, 7, 673.
63. Pardon. — *Arch. Mal. Prof.*, 1955, **16**, 5, 427.
64. Dassonville, Lecoq & Thébault. — *Arch. Mal. Prof.*, 1954, **2**, 158.
65. Gillon. — *Arch. Mal. Prof.*, 1952, **2**, 198.
66. Jeantet & Trouel. — *Arch. Mal. Prof.*, 1948, **9**, 1, 32.
67. Huron. — *Arch. Mal. Prof.*, 1951, **2**, 162.
68. Gillon, Fabre & Sterboul. — *Arch. Mal. Prof.*, 1948, **9**, 129.
69. Gillon. — *Arch. Mal. Prof.*, 1951, **5**, 568.
70. Charlot & Gaudin. — Dosages colorimétriques. Masson & C^ie^, édit., Paris, 1952, p. 155.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

Introduction 1

Chapitre premier. — Les techniques utilisées 3

I. — La numération globulaire 3

II. — Les méthodes de dosage de l'hémoglobine du sang. 4

a) Les méthodes colorimétriques 5

b) Les méthodes gazométriques 7

c) Les méthodes chimiques de dosage du fer 7

d) Les méthodes spectrophotométriques 10

III. — La recherche et le comptage des hématies à granulations basophiles 12

IV. — Le dosage des coproporphyrines urinaires 13

V. — Le dosage de la protoporphyrine libre globulaire.... 15

Chapitre II. — Les variétés d'hémoglobine 17

Chapitre III. — Etude critique et statistique des résultats. 31

I. — Rappel des données statistiques 31

II. — Sujets normaux 33

a) Série des femmes normales 33

b) Série des hommes normaux 36

c) Conclusion 41

III. — Sujets soumis à des vapeurs d'hydrocarbures 43

IV. — Sujets soumis à la nuisance du plomb 44

V. — Commentaires 52

a) Retentissement hématologique des solvants organiques 52

b) Retentissement hématologique de la nuisance du plomb 54

c) Conclusion 55

VI. — Applications 56

Conclusions 59

Bibliographie 63

Bordeaux. — Impr. E. Drouillard, place de la Victoire, 3.